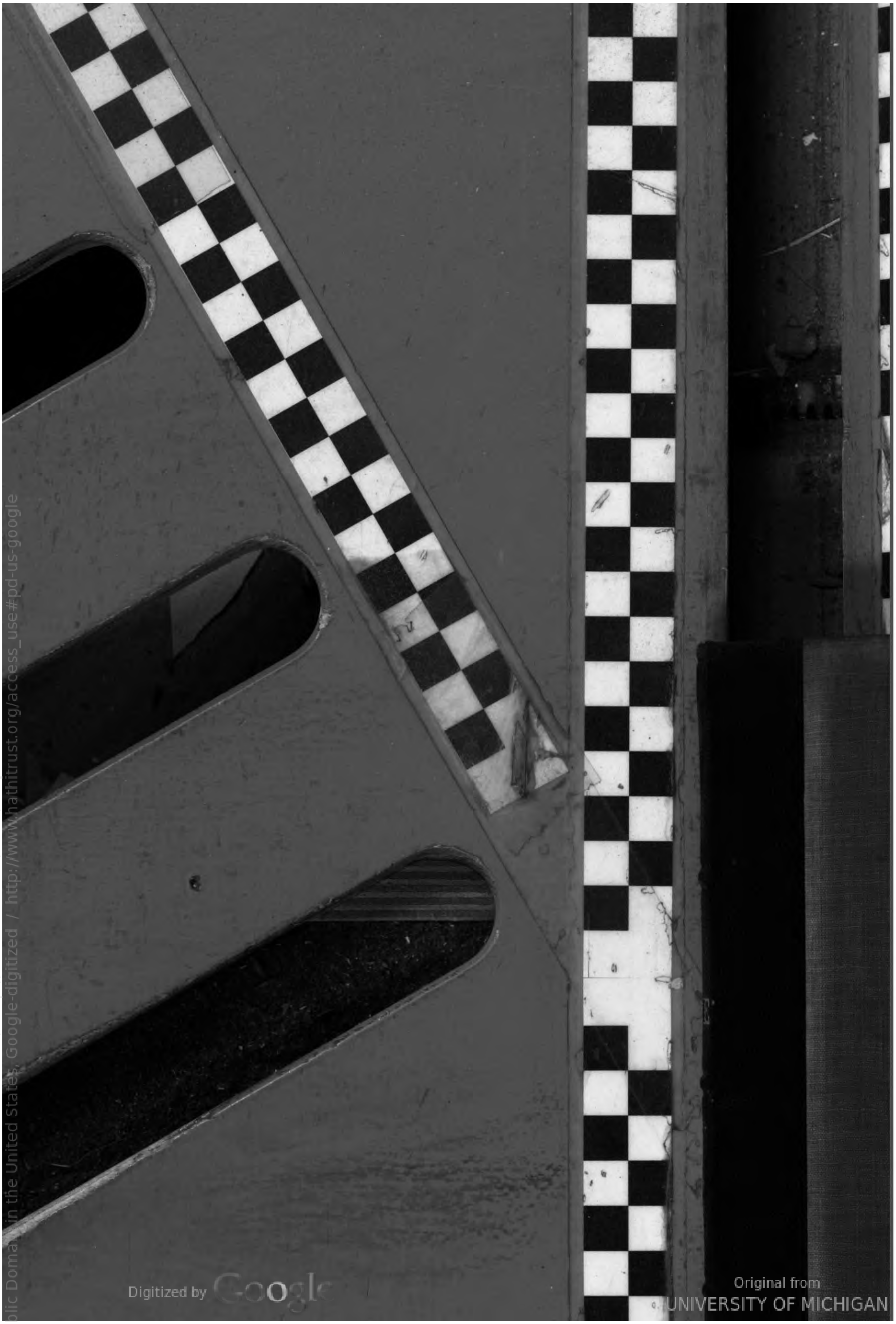
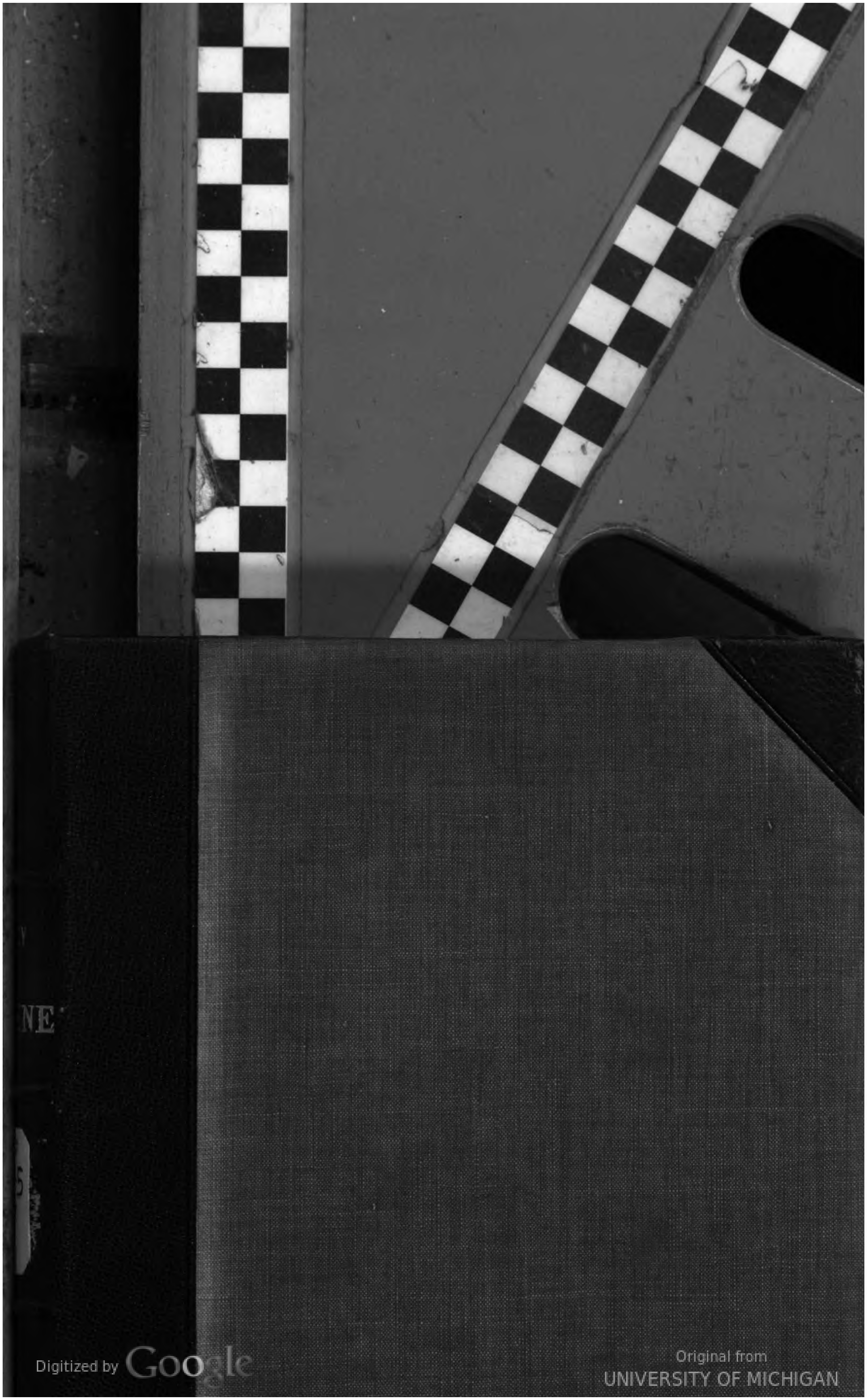
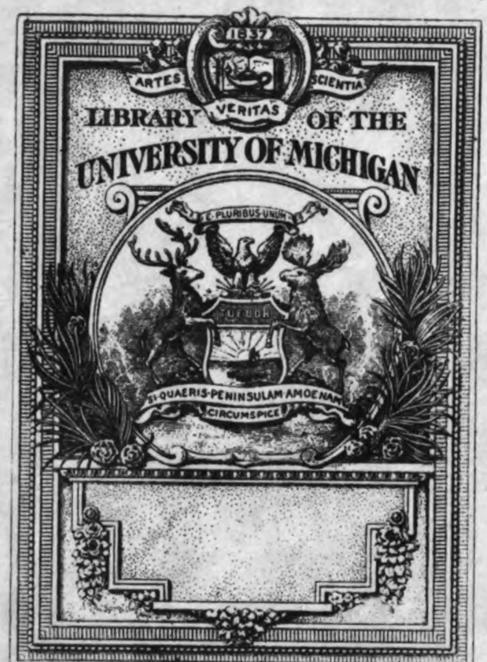





1837
ARTES
VERITAS
SCIENTIA
LIBRARY OF THE
UNIVERSITY OF MICHIGAN
E PLURIBUS UNUM
TUEBOR
SI QUAERIS PENINSULAM AMOENAM
CIRCUMSPICE

ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER**)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. Fr. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. W. SILBERSCHMIDT, Zürich; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN

EINUNDSIEBZIGSTER BAND

Mit 19 Abbildungen

MÜNCHEN UND BERLIN

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG

1909

Inhalt.

Läfst sich durch autolysierte Organe bei der gleichen Spezies Anaphylaxie erzeugen?

Von

Dr. **Mac Fahrland.**

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Rubner.)

Die in neuester Zeit eingehend studierten Symptome der Anaphylaxie sind schon verschiedentlich mit Erscheinungen aus der menschlichen Pathologie in Zusammenhang gebracht worden. In der Tat treten bei wiederholter Injektion von artfremden Zellmaterial oder Eiweifs bei Tieren Krankheitserscheinungen auf — bestehend in soporösen und krampfartigen Zuständen —, die eine grofse Ähnlichkeit mit den Symptomen des Coma, der Urämie, der Eklampsie usw. haben. Es hat auch nicht an Versuchen gefehlt, diesen Zusammenhang theoretisch zu erklären, und insbesondere haben Weichardt[1]), Wolff-Eisner[2]) u. a. die Hypothese aufgestellt, dafs in den Zellen des Organismus Endotoxine enthalten seien, welche durch lytische Antikörper, die im Serum anaphylaktischer Tiere vorhanden seien, in Freiheit gesetzt würden. Eine gewisse Stütze hat diese Anschauung dadurch erhalten, dafs für die Serumanaphylaxie, später auch für die Bakterienanaphylaxie, die Existenz anaphylaktischer Reaktionskörper experimentell erwiesen wurde (Nicolle[2a]), Otto[3]), Friedemann[4]), Kraus und Doerr[5]), Pick und Yamanouchi[6]) u. a.) Die Übertragung dieser Ergebnisse auf die menschliche Pathologie stöfst aber bisher auf prinzipielle Schwierigkeiten, da mit

ganz geringen Ausnahmen eine Anaphylaxie nur bei Injektion artfremder Zellen, nicht aber bei artgleichem Zellmaterial beobachtet wurde. Eine solche Ausnahme stellt die von Kraus, Doerr[8]) und Sohma, sodann von Uhlenhuth und Andrejew[8a]) entdeckte Eigenschaft der Kristallinse dar, auch bei der gleichen Tierart Anaphylaxie zu erzeugen.

Da zahlreiche Versuche anderer Autoren bereits ergeben haben, dafs unveränderte arteigene Zellen nicht anaphylaktisch wirksam sind, so wurde in den folgenden Experimenten der Versuch unternommen, durch gewisse Eingriffe Veränderungen an den Zellen zu erzeugen, welche ihnen gewissermafsen fremdartige Eigenschaften gegenüber dem Organismus verleihen könnten. Hatten doch Obermeier und Pick[9]) gefunden, dafs durch Jodieren, Nitrieren, Diazotieren usw. das Eiweifs so verändert wird, dafs es nunmehr imstande ist, auch bei der gleichen Tierart Präzipitine zu erzeugen. Besonders richteten wir unser Augenmerk aber auf solche Prozesse, welche sich auch im Organismus unter pathologischen Bedingungen abspielen können. Unter diesen scheint die Autolyse als ein bei den verschiedensten Prozessen vorhandener Vorgang in Betracht zu kommen, zumal Obermeier und Pick schon beobachtet hatten, dafs durch weitgehenden Abbau (Trypsinverdauung) das Eiweifs ebenfalls seine spezifischen Eigenschaften verliert und neue fremdartige gegenüber dem eigenen Organismus annimmt.

Zu diesen Versuchen dienten die Lebern und Nieren von Kaninchen, die in einer Versuchsreihe 1 Tag, in einer anderen 7—19 Tage der Autolyse unterworfen wurden.[1])

1 Tag Autolyse.

Bereitung des Extrakts: Die Leber wird von gründlich entbluteten Kaninchen gewonnen, über Nacht bei Zimmertemperatur autolysiert, abgewogen und fein zerrieben mit Sand im Mörser. Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung, im Gewichtsverhältnis von 10 : 1. Die Mischung wird gut geschüttelt und $^1/_2$ Stunde vor dem Filtrieren stehen gelassen.

1) Anmerkung während der Korrektur: In neuester Zeit ist es Rosenau und Anderson gelungen, mit autolysierter Plazenta bei Meerschweinchen Anaphylaxie zu erzeugen.

Tabelle I.

17. Dezember 1908.

Kaninchen		Intravenöse Injektion mit Leberextrakt	Versuchsergebnisse
Nr.	Gewicht g		
9	756	3 ccm	Unmittelbar darauf Dyspnoe, Urinentleerung, temporäre Lähmung der Hinterbeine. Erholung nach $^1/_2$ Std.
10	660	4 »	Die Symptome waren nicht so schwer wie die von Nr. 9. Baldige Erholung
11	630	3 »	Schwere Dyspnoe
12	675	3 »	Dyspnoe
13	635	4 »	Dyspnoe
14	735	4 »	Dyspnoe

Tabelle II.

31. Dezember 1908.

Kaninchen		Intravenöse Injektion mit Leberextrakt	Versuchsergebnisse
Nr.	Gewicht g		
9	756	3 ccm	Keine Symptome
10	660	4 »	» »
11	630	3 »	» »
12	675	3 »	» »
13	625	4 »	» »
14	675	4 »	» »

4. Januar 1909 Nr. 9 †. Sektion negativ. 8. Januar Nr. 10 †. Sektion Pneumonie.

Tabelle III.

8. Januar 1909.

Kaninchen		Intravenöse Injektion mit Leberextrakt	Versuchsergebnisse
Nr.	Gewicht g		
11	680	3 ccm	Keine Symptome
12	640	3 »	» »
13	625	4 »	» »
14	735	4 »	» »
21	1010 Kontrolle	3,5 »	» »

9. Januar Nr. 11 †. Pneumonie.

Tabelle IV.

16. Januar 1909.

Gewicht g		Intravenöse Injektion mit Leberextrakt	Versuchsergebnisse
Nr.	Gewicht g		
12	765	3 ccm	Schwere charakteristische anaphylaktische Symptome. Erholung nach 1 Stunde
13	615	4	Charakteristische Symptome. Nicht schwere
14	742	4 ›	Charakteristische Symptome. Nicht schwere
21	1116	3,5 ›	Schwere charakteristische Symptome. Erholung
25	1115 Kontrolle	3,5 ›	Keine Symptome
26	815 ›	3 ›	Keine Symptome

Diese Tabelle ist von Interesse in Bezug auf die Schwere der Reaktion bei den ersten vier Tieren bei vollkommenem Fehlen von Symptomen in Tabelle II und III. Auch das Fehlen von Symptomen bei den Kontrolltieren gegenüber den Erscheinungen bei der ersten Injektion (Tab. I) ist auffallend.

Tabelle V.

24. Januar 1909.

Kaninchen		Intravenöse Injektion mit Leberextrakt	Versuchsergebnisse
Nr	Gewicht g		
12	705	3 ccm	Keine Symptome
13	640	4 ›	› ›
14	610	4 ›	› ›
21	1180	3,5 ›	› ›
25	1265	3,5 ›	› ›
26	870	3 ›	› ›
29	900 Kontrolle	3 ›	› ›

Lange Autolyse.

Bereitung des Extrakts. Leber und Niere von gründlich entbluteten Kaninchen gewonnen. Gewogen und fein zerrieben mit Sand im Mörser. Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung, im Gewichtsverhältnis von 3:1, und ausreichendem Zusatz von Toluol, um Zersetzung zu verhüten. Die Mischung wird im Brutschrank bei 37° so lang wie erforderlich gehalten, dann filtriert und Toluol sorgfältig abgedampft.

Tabelle I.

4. Januar 1909. Extrakte vom 16. Dezember 1908.

Kaninchen Nr.	Kaninchen Gewicht g	Intravenöse Injektion mit	Versuchsergebnisse
15	815	1 ccm Nierenextrakt	Keine Symptome
16	852	1 » » »	» »
17	820	1 » » »	» »
18	870	1 » Leberextrakt	» »
19	845	1 » » »	» »
20	904	1 » » »	» »

Tabelle II.

12. Januar 1909. Extrakte vom 4. Januar 1909.

Kaninchen Nr	Kaninchen Gewicht g	Intravenöse Injektion mit	Versuchsergebnisse
15	940	1 ccm Nierenextrakt	Keine Symptome
16	1015	1 » » »	» »
17	925	1 » » »	» »
22	940 Kontrolle	1 » » »	» »
18	940	1 » Leberextrakt	» »
19	1090	1 » » »	» »
20	840	1 » » »	» »
23	680 Kontrolle	» » » »	» »

† 18. Januar 1909 Nr. 17. Nr. 20. Pneumonie.

Tabelle III.

19. Januar 1909. **Extrakte** vom 8. Januar 1909.

Kaninchen		Intravenöse Injektion mit	Versuchsergebnisse
Nr.	Gewicht g		
15	925	1 ccm Nierenextrakt	Keine Symptome
16	1025	1 » » »	» »
22	1015	1 » » »	» »
27	1282 Kontrolle	1 » » »	» »
18	990	1 » Leberextrakt	» »
19	1070	1 » » »	» »
23	730	1 » » »	» »
28	1335 Kontrolle	1 » » »	» »

† 28. Januar 1909 Nr. 22. Empyem.

Tabelle IV.

28. Januar 1909. **Extrakte** vom 16. Januar 1909.

Kaninchen		Intravenöse Injektion mit	Versuchsergebnisse
Nr.	Gewicht g		
15	930	1 ccm Nierenextrakt	Keine Symptome
16	1025	1 » » »	» »
27	1250	1 » » »	» »
30	800 Kontrolle	1 » » »	» »
18	940	1 » Leberextrakt	» »
19	1025	1 » » »	» »
23	527	1 » » »	» »
28	1335	1 » » »	» »
29	915	1 » » »	» »
			» »

Die Injektionen in der übrigen Serie verursachten keinerlei anaphylaktische Symptome.

Zusammenfassung.

1. A. Beim Kaninchen verursacht Extrakt von Kaninchenleber, der 24 Stunden autolysiert wurde, unregelmäſsige und zuweilen schwere toxische Symptome.
   B. Die Schwere der Symptome scheint bei den einzelnen Lebern sehr verschieden zu sein.
2. Bei Kaninchen verursachen Extrakte von Kaninchenlebern und -nieren, die 7—19 Tage autolysiert waren, keinerlei toxische Symptome.
3. Die 7—19 Tage autolysierten Lebern rufen auch bei wiederholten Injektionen keine Krankheitserscheinungen hervor.
4. Bei den 1 Tag autolysierten Lebern waren die Ergebnisse schwankend. Im allgemeinen wurde eine Anaphylaxie nicht erzielt. Bei der 4. Injektion erkrankten jedoch die vorbehandelten Tiere, während die Kontrolltiere gesund blieben.

Literatur.

1. Weichardt, ›Zur Frage der Überempfindlichkeit‹. Folia Hämatologica, 1907, vol. 4.
2. Wolff-Eisner, ›Untersuchungen über einige Immunitätsfragen‹. Berlin. klin. Wochenschr. 1904. Nr. 42—44.
Zentralbl. f. Bakterien 1904.
3. Otto, ›Zur Frage der Serumüberempfindlichkeit‹. Münchener med. Wochenschr. 1907. Nr. 34.
4. U. Friedeman, ›Über passive Überempfindlichkeit‹. Münchener med. Wochenschr. 1907. Nr. 49.
5. Lewis, Journ. of exper. Med. 1908. Ref. Jahresbericht über die Ergebnisse der Immunitätsforschung von W. Weichardt.
6. Kraus u. Doerr, ›Über Bakterienanaphylaxie‹. Vortrag, gehalten an der ›Freien Vereinigung für Mikrobiologie‹. Berlin, Juli 1908.
7. Pick und Yamanouchi, ›Studien über Anaphylaxie‹. Wiener klin. Wochenschr. 1908. Nr. 44.
8. Kraus, Doerr u. Sohma, ›Über Anaphylaxie, hervorgerufen durch Organextrakte (Linsen)‹. Wiener klin. Wochenschr. 1908, Nr. 30.
9. Andrejew, Über Anaphylaxie mit Eiweifs tierischer Linsen. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundh.-Amte, Bd. 30, 1909, Heft 2, S. 450.
10. Obermayr und Pick, Über die chemischen Grundlagen der Arteigenschaften der Eiweifskörper‹. Wiener klin. Wochenschr. 1906.

Untersuchungen über das Salzfieber bei normalen und anaphylaktischen Kaninchen.

Von

Dr. **Heinrich Davidsohn** und Dr. **Ulrich Friedemann,**
Privatdozent.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

Die Frage nach der Art der Agentien, die im tierischen Organismus Fieber zu verursachen vermögen, schien durch die Bakteriologie schon völlig gelöst zu sein, bis vor kurzem Finkelstein[1]) sich mit höchst wichtigen Argumenten gegen die herrschende Anschauung wandte. Finkelstein konnte zeigen, dafs die beim Säugling im Gefolge von Magendarmstörungen so häufig zu beobachtenden Fiebererscheinungen in einem grofsen Teil der Fälle nichts mit Bakterienwirkung zu tun haben, sondern lediglich auf die unverdorbenen Bestandteile der Nahrung zurückzuführen sind. Sie werden deshalb von Finkelstein mit dem Namen des alimentären Fiebers bezeichnet. Die wichtigste Rolle bei der Erzeugung des alimentären Fiebers scheint bisher der Zucker zu spielen.

Untersuchungen von Schaps[2]) an der Finkelsteinschen Klinik haben weiterhin ergeben, dafs man durch subkutane Injektion kleiner Mengen isotonischer Zuckerlösungen bei Säuglingen ziemlich regelmäfsig Temperatursteigerung erzielen kann;

1) Deutsche med. Wochenschrift, 1909, Nr. 5, 191.
2) Berl. klin. Wochenschrift, 1907, Nr. 19.

mit anderen Worten, Zucker, in einer Form einverleibt, die das Entstehen von Gärungsprodukten ausschließt, erzeugt vom subkutanen Gewebe aus Fieber.

Finkelstein erklärt diese Befunde mit der Annahme, daß hier der Zucker »physikalisch, d. h. als Salz« wirke, und stützt seine Behauptung auf die Beobachtungen von Krehl[1]), der beim Tier, von Schaps[2]), Gofferjé und Möllhausen[3]), L. F. Meyer und Rietschel[4]), die beim Säugling nach subkutaner Infusion von physiologischer Kochsalzlösung in ganz entsprechender Weise Fieber beobachtet haben. Später hat L. F. Meyer[5]) auch nach stomachaler Einverleibung von Salzlösungen fieberhafte Temperatursteigerungen erzielt, allerdings nur nach Halogennatriumverbindungen, während zahlreiche andere Verbindungen sich völlig indifferent erwiesen haben.

Die übereinstimmenden Resultate bei der subkutanen Darreichungsweise von Zucker- und Salzlösungen scheinen die Annahme Finkelsteins zu unterstützen. Leider sind Versuche mit subkutaner Injektion anderer Salzlösungen als physiologischer Kochsalzlösung bisher noch nicht in ausreichendem Maße gemacht worden. Bei den oralen Experimenten aber kann der Umstand, daß die Halogennatriumverbindungen vom Darm aus pyrogen wirken, noch nicht zu Gunsten der Auffassung verwertet werden, daß die Zuckerwirkung als eine rein osmotische anzusehen ist. Im Gegenteil, es könnte die isolierte Stellung der Kochsalzlösung vielmehr auch dahin gedeutet werden, daß es sich hier nicht um osmotische Vorgänge handelt, sondern vielleicht um Lösung oder Fällung von Kolloiden u. a. m. Zum weiteren Studium dieser Frage erscheint uns die Prüfung der verschiedensten Lösungen auf ihre fiebererregende Wirkung vom Darm, vom Unterhautzellgewebe aus und eventuell auch nach direkter Einbringung in die Blutbahn äußerst wichtig.

---

1) Archiv f. exper. Pathologie, 1895, 35, 222.
2) a. a. O.
3) Jahrb. f. Kinderheilk. 1908, 68 188.
4) Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 50.
5) Deutsche med. Wochenschr. 1909, Nr. 5, 194.

Den Ausgangspunkt unserer folgenden Untersuchungen bildet nun die von Finkelstein und Meyer weiterhin festgestellte Tatsache, daſs der erkrankte Organismus des Säuglings sich bei der Zufuhr von Salzen und Zucker anders verhält wie der gesunde, eine Tatsache, welche zweifelsohne von besonderer Wichtigkeit für die Lehre von den Ernährungsstörungen des Säuglings ist. Während nämlich der normale Säugling erst auf die stomachale Gabe von 300 g 1 proz. Kochsalzlösung mit Temperatursteigerung reagiert, zeigen magendarmgestörte Kinder schon bei 100 g derselben Lösung deutliches, zuweilen sogar hohes Fieber. Noch auffälliger ist die klinische Beobachtung, daſs der native Zucker der Milch bei kranken Säuglingen, mitunter schon bei sehr kleinen Milchmengen, zunächst Fieber und dann mehr oder weniger schnell das schwere Krankheitsbild der alimentären Intoxikation, bestehend in Fieber, Bewuſstseinstrübung, Albuminurie, Glykosurie, Cylindrurie, Leukocytose usw., hervorzurufen vermag. Aus den klinischen und experimentellen Untersuchungen Finkelsteins[1]) geht mit Deutlichkeit die Tatsache hervor, daſs der Allgemeinzustand des Säuglings in erster Linie für die Reaktion auf Salz und Zucker maſsgebend ist. Höchstwahrscheinlich ist es aber keine einheitliche Ursache, die den Organismus des Säuglings auf das Salzfieber und die Intoxikation vorbereitet.

Dem Ausbruch einer alimentären Vergiftung gehen in der Regel mehrere leichtere oder schwerere Darmerkrankungen voraus; sie spielen nach Finkelstein in der Vorgeschichte der Intoxikation eine vorbereitende Rolle. Die »Katastrophe« tritt ein, wenn es auf diese Weise zu einer Störung des allgemeinen Stoffwechsels gekommen ist. Als ursächliches Moment der Magendarm*krankheit*en und infolgedessen auch der Stoffwechselstörung ist erfahrungsgemäſs der künstlichen Ernährung als solcher eine wesentliche Bedeutung zuzumessen, wobei wir natürlich ganz von den durch unrationelle Ernährung hervorgerufenen Schäden absehen; im gleichen Sinne scheint aber unter anderem auch das Überstehen von infektiösen Erkrankungen zu wirken.

---

1) Jahrbuch f. Kinderheilk. 1908, 68.

Experimentelle Versuche auf einem scheinbar fernliegenden Gebiete, mit denen wir seit geraumer Zeit beschäftigt waren, erweckten in uns die Hoffnung, der Frage nach den Ursachen der Stoffwechselstörung des Säuglings auf dem Wege des Tierexperiments näher treten zu können. Es fiel uns nämlich auf, dafs die von Finkelstein gegebene Beschreibung des klinischen Verlaufes der Intoxikation eine aufserordentlich grofse Ähnlichkeit besitzt mit den Erscheinungen, welche den Symptomenkomplex der sog. Anaphylaxie bilden.

Werden Tiere wiederholten Injektionen artfremder Eiweifsstoffe oder Zellen unterworfen, so treten Krankheitserscheinungen auf, die in neuerer Zeit von verschiedenen Seiten ausführlich beschrieben worden sind, und unter denen die auch bei Säuglingen konstatierte Schläfrigkeit und Schwäche auffallende Symptome bilden.

Diese Beobachtungen brachten uns auf den Gedanken, dafs auch bei den besprochenen Erkrankungen des Säuglings Überempfindlichkeitserscheinungen, die in unspezifischer Weise ausgelöst werden, eine Rolle spielen könnten. Für diejenigen Säuglinge, die eine infektiöse Erkrankung durchgemacht haben, stöfst diese Annahme auf keine Schwierigkeit, da nach den neueren Erfahrungen das Überstehen einer Infektion durchaus nicht immer zu einer Immunität zu führen braucht, sondern häufig, wenigstens in gewissen Stadien, einen anaphylaktischen Zustand erzeugt.

Weniger leicht zu beantworten ist die Frage, inwieweit die Ernährung mit der artfremden Milch zur Anaphylaxie und zur Stoffwechselstörung des Säuglings in Beziehung gebracht werden kann. Bekanntlich ist gerade diesem Faktor von Hamburger[1]) u. a. eine grofse Bedeutung beigelegt worden, und zwar glaubte dieser Autor in der Assimilierung des fremden Eiweifses eine die Kräfte des jugendlichen Organismus überschreitende Aufgabe zu sehen. Die genannte Auffassung ist allerdings, namentlich von pädiatrischer Seite, nicht unwidersprochen geblieben, besonders mit Rücksicht auf die jetzt wohl allgemein anerkannte Tatsache,

1) Arteigenheit und Assimilation. Wien, Denticke 1904.

dafs unter normalen Verhältnissen das Eiweifs im Darmkanal vor seiner Resorption vollständig gespalten wird.

Trotzdem kann es nach den in der Literatur vorliegenden Angaben (Ganghofner und Langer[1]), Uffenheimer[2]) im Tierversuch; Bauer[3]) und Moro[4]) beim Säugling) nicht bezweifelt werden, dafs bei Erkrankungen des Darmes die artfremden Bestandteile der Kuhmilch unter besonderen Umständen in das Blut übertreten können. Wenn auch Moll[5]) neuerdings gezeigt hat, dafs ganz junge Kaninchen gegen die Schädigungen des artfremden Eiweifses weit weniger empfindlich sind als erwachsene Tiere, so scheint uns doch nach den vorliegenden experimentellen Erfahrungen die Annahme nicht unbegründet, dafs der länger fortgesetzte Übertritt artfremden Eiweifses in die Blutbahn ein für den Organismus des Säuglings keineswegs gleichgültiger Vorgang ist. Zudem ist auch eine Schädigung des Darmepithels durch das artfremde Eiweifs nicht ausgeschlossen.

Allerdings müssen wir hier erwähnen, dafs Finkelstein und Meyer dem Eiweifs oder wenigstens dem Kasein keine Bedeutung für das Zustandekommen der Ernährungsstörung des Säuglings beimessen. Und zwar stützen sich diese Forscher auf die klinische Beobachtung, dafs selbst grofse Mengen Kasein, der Nahrung hinzugesetzt, unschädlich sind, während die Molke der Kuhmilch bei fortgesetztem Gebrauch Krankheitserscheinungen erzeugt. Es ist aber bisher noch keineswegs als erwiesen zu betrachten, dafs die die Anaphylaxie erzeugende Substanz mit dem Eiweifs resp. dem Kasein identisch ist. Nach den neueren Versuchen von Besredtka, Pick und Yamanouchi, u. a. ist dies sogar unwahrscheinlich. Aufserdem dürfen wir nicht vergessen, dafs die Molke ja das Albumin enthält, über dessen biologische Bedeutung wir sehr wenig wissen.

1) Münch. med. Wochenschr. 1904, Nr. 34.

2) Experimentelle Studien über Durchgängigkeit der Wandungen des Magendarmkanals neugeborener Tiere für Bakterien und genuine Eiweifsstoffe. München, R. Oldenbourg.

3) Münch. med. Wochenschr. 1906, Nr. 46.

4) Münch. med. Wochenschr. 1906, Nr. 6 und 49.

5) Jahrbuch für Kinderheilk. 1908, 68, 1.

Wir fassen unsere bisherigen Erwägungen noch einmal folgendermafsen zusammen: Da nach Finkelstein der in den Darmkanal des Säuglings eingeführte Zucker nur dann zu alimentärem Fieber und zur Intoxikation Veranlassung gibt, wenn der betreffende Organismus bereits eine Störung seines allgemeinen Stoffwechsels erfahren hat, und da anderseits in der Wirkungsweise der Salze und des Zuckers Analogien vorzuliegen scheinen, so entstand bei der Ähnlichkeit zwischen den Symptomen der Intoxikation und der Anaphylaxie in uns die Vermutung, dafs die starke Reaktion auf Zucker und dementsprechend auch auf Salze wenigstens zum Teil auf einen überempfindlichen Zustand zurückzuführen, d. h. als Zeichen einer Allergie im Sinne v. Pirquets[1]) zu deuten sei. Das Bemerkenswerte wäre dabei vor allem in der Unspezifität des Vorgangs zu suchen.

Um nun unsere Vermutung experimentell zu prüfen, haben wir untersucht, ob Kaninchen, welche durch vorangegangene Eiweifsinjektionen in den Zustand der Anaphylaxie versetzt worden waren, in dem Verhalten ihrer Körpertemperatur gegenüber der Zufuhr von Salzen und Zucker eine ähnliche gesteigerte Empfindlichkeit zeigen wie der erkrankte Organismus des Säuglings. In unserer Vermutung wurden wir noch durch die eigentümliche Beobachtung Heilners[2]) bestärkt, dafs von 5 Kaninchen, die mit grofsen Mengen artfremden Serums vorbehandelt waren, 4 bei einer später erfolgenden subkutanen Injektion von 300 ccm 4 % Kochsalzlösung (= 1/7 des Körpergewichtes) zugrunde gingen, während von normalen Tieren nur eines diesem Eingriff unterlag. Heilner selbst bemerkt allerdings, dafs die Zahl dieser Versuche zu gering sei, als dafs sich bei der Kompliziertheit der in Betracht kommenden Verhältnisse eine strenge Gesetzmäfsigkeit aus ihnen ableiten liefse, spricht aber die Vermutung aus, dafs im wesentlichen der hohe osmotische Druck der eingespritzten Lösung den Tod der überempfindlichen Tiere verursacht hat.

1) Ergebnisse d. inn. Medizin u. Kinderheilk., Bd. 1, 1908, 420.
2) Zeitschr. f. Biologie, Bd. 50, 476.

Damit wir an die Ausführung unserer eigentlichen Versuche gehen könnten, war es nötig, uns zuvor gröſsere Erfahrung über den Einfluſs der Salze und des Zuckers unter besonderen Bedingungen auf die Temperaturkurve des normalen Kaninchens zu verschaffen. Aus verschiedenen Gründen haben wir zunächst von der oralen Zufuhr dieser Substanzen abgesehen und den subkutanen sowie intravenösen Weg der Einverleibung eingeschlagen. Es hat dies nämlich den Vorteil, daſs die zu prüfenden Stoffe in reiner Form und nicht mit dem Inhalt des Darmkanals vermischt an den Ort ihrer Wirksamkeit gelangen. Sodann aber lag es uns auch daran, festzustellen, ob bei Ausschaltung jeder lokalen Wirkung auf den Darm sich ein Einfluſs der Vorbehandlung bei den Tieren konstatieren lassen würde.

Bevor wir unsere Versuchsprotokolle mitteilen, möchten wir noch mit einigen Worten auf die von uns geübte Technik der Temperaturmessung beim Kaninchen eingehen. Wir haben die Temperaturen stets im Rektum bestimmt, was ganz leicht gelingt. Man muſs zu diesem Zweck nur das Kaninchen mit dem Rücken nach unten auf den Schoſs nehmen und die vier Pfoten mit der einen Hand zusammenhalten, so daſs man mit der anderen freien Hand das wohl eingefettete Thermometer einführen kann. Das Thermometer ist zweckmäſsigerweise sehr klein und am besten kuglig abgerundet. Es muſs 6 bis 8 cm tief und jedesmal gleich tief eingeführt werden. Bei der von uns angegebenen Lage des Versuchstieres ist das Thermometer ziemlich senkrecht und mit einer leichten Neigung von sich ab vorzuschieben, bis man den vom Steiſsbein gebildeten Vorsprung überwunden hat; von jetzt ab ist die entgegengesetzte Richtung, *d. h. zu sich heran*, einzuschlagen. Man braucht sich vor Verletzungen *nicht* sehr zu fürchten, auch wenn man das Thermometer noch tiefer einführt. Uns sind bei unseren vielen Messungen nur zweimal Perforationen vorgekommen (vgl. Vers. 15 a).

Ein gutes Kriterium dafür, ob man bei der Einführung des Thermometers auf dem richtigen Wege ist, bildet das Verhalten des Tieres. Liegt das Kaninchen einmal mit dem Rücken nach unten auf dem Schoſs, so ist es vollkommen ruhig und bleibt

so während der ganzen Zeit der richtig durchgeführten Messung.

Wir haben uns bei diesen einfachen Dingen etwas genauer aufgehalten, weil unsere Erfahrungen uns belehrt haben, daſs ein peinlich genaues Vorgehen bei der Messung unbedingte Voraussetzung ist für das Zustandekommen einer guten Temperaturkurve.

Die Zahl der während der Tagesstunden vorgenommenen Messungen haben wir hauptsächlich von der Art der Versuche abhängig gemacht. Wir haben nach intravenösen Injektionen meistens halbstündlich gemessen, während wir uns bei den Versuchen mit subkutaner Injektion in der Regel mit dreistündlichen Temperaturaufzeichnungen begnügten.

Nach unseren zahlreichen Erfahrungen liegt die Temperatur eines normalen Kaninchens zwischen 39 und 40°. Wir haben allerdings auch niedrigere Temperaturen, wie 38,7° und einmal sogar 38,5°, beobachtet, ohne daſs wir Grund gehabt hätten, das Kaninchen als krank zu bezeichnen, während wir bei völlig gesunden Tieren nie Temperaturen über 40° gesehen haben. Man kann deshalb mit gutem Grunde behaupten, daſs Temperaturen über 40° bei Kaninchen in jedem Falle als pathologisch zu betrachten sind.

Die Differenz zwischen dem Tagesmaximum und -minimum liegt etwa zwischen 0,5 und 0,7°, allerdings gehört zu einer exakten Bestimmung der Tagesdifferenz eine mindestens zweistündliche Messung. Unter diesen Bedingungen sind Differenzen von mehr als 0,9° als fieberhaft anzusehen, auch wenn das Temperaturmaximum unter 40° liegt.

Trotzdem möchten wir bei der Beurteilung einer Temperaturkurve dringend zu einer kritischen Verwendung dieses relativen Fiebers raten. Wir haben doch zuweilen Bedenken getragen bei Differenzen von 0,9° ohne weiteres die Diagnose Fieber zu stellen. Es ist deshalb, namentlich bei den Versuchen mit dreistündlicher und noch seltnerer Messung, das Augenmerk mehr auf das Temperaturmaximum als auf die Differenz zu richten.

A. Versuche mit subkutaner Injektion von Kochsalzlösung.

I. Normale Kaninchen.

Versuch 1. Kaninchen 30. 1600 g.

25. I.	11 Uhr Vorm.	39,4
	2 ›	39,5
	5 ›	39,4
	7 ›	39,1
26. I.	8 ›	39,6

1 Uhr Inj. von 3,2 ccm 0,75 % NaCl subkutan

	2 Uhr	39,0
	5 ›	39,6
	8 ›	39,4

Versuch 2. Kaninchen 27. 1730 g.

18. I. 09	11 Uhr	39,6

11 15 Inj. von 4,3 ccm NaCl 0,75 % subkutan

	4 Uhr	39,5
	5 ›	39,5
	7 ›	39,5
19. I.	8 Uhr	39,1
	4 ›	39,5
	7 ›	40,05

Versuch 3. Kaninchen 28. 1970 g.

18. I. 09	11 Uhr	39,5

11 15 Inj. von 5 ccm NaCl 0,75 % subkutan

	4 Uhr	39,55
	5 ›	39,6
	7 ›	39,0
19. I.	8 › Vorm.	38,9
	4 ›	39,2
	7 ›	39,75

Versuch 4. Kaninchen 31. 1660 g.

25. I. 09	11 Uhr	39,1
	3 ›	39,0
	6 ›	39,15
	8 ›	39,35
26. I.	8 › Vorm.	39,2

1 Uhr Inj. von 5 ccm 0,75 % NaCl subkutan

	2 Uhr	39,0
	6 ›	39,5
	8 ›	39,45
27. I.	11 ›	39,5
	2 ›	39,55
	8 ›	39,9
28. I.	11 ›	39,5
	4 ›	39,6
	7 ›	39,75

Versuch 5. Kaninchen 32. 1800 g.

25. I.	11 Uhr	39,2
	3 ›	38,9
	6 ›	39,3
	8 ›	39,3
26. I.	8 › vorm.	39,4

1 Uhr Inj. von 7,2 ccm 0,75 % NaCl subkutan

	2 Uhr	39,1
	6 ›	39,7
	8 ›	39,35
27. I.	11 › vorm.	39,0
	2 ›	39,6
	8 ›	39,5

Versuch 6. Kaninchen 26. 1470 g.

18. I.	11 Uhr vorm.	39,8

11 15 Inj. von 7,4 ccm 0,75 % NaCl subkutan

	4 Uhr	39,8
	5 ›	40,05
	7 ›	40,1
19. I.	8 › vorm.	38,6
	5 ›	39,35
	7 ›	39,5

Versuch 7. Kaninchen 25. 1670 g.

18. I. 11 Uhr 39,8

11[15] Inj. von 8,4 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

	4 Uhr		39,7
	5 ›		39,95
	7 ›		40,25
19. I.	8 ›	vorm.	39,9
	5 ›		39,35
	7 ›		39,7

Versuch 8. Kaninchen 33. 1860 g.

25. I.	11 Uhr	39,4
	3 ›	39,2
	5½ ›	39,65
	7½ ›	39,45
26. I.	8 ›	39,3

1 Uhr Inj. von 8,3 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

	2 Uhr	39,2
	6 ›	40,0
	8 ›	40,25
27. I.	11 ›	39,3
	8 ›	39,3

Versuch 9. Kaninchen 31.
Vgl. Versuch 4.

28. I.	11 Uhr	39,5
	4 ›	39,6
	7 ›	39,75
29. I.	8 ›	39,4
	1 ›	39,3

1[15] Inj. von 16,5 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

	2 Uhr	38,9
	6 ›	39,8
	8 ›	40,05
30. I.	8 ›	39,4
	2 ›	39,4
	6 ›	39,4
	8 ›	40,0
31. I.	12 ›	39,35
	8 ›	39,3

Versuch 10. Kaninchen 32.
Vgl. Versuch 5.

28. I.	11 Uhr	39,1
	4 ›	39,4
	7 ›	39,85
29. I.	8 ›	39,35
	1 ›	38,9

1[15] Inj. von 18 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

	2 Uhr		39,1
	6 ›		39,85
	8 ›		40,05
30. I.	8 Uhr	vorm.	39,25
	2 ›		39,2
	5 ›		39,3
	8 ›		39,55

Versuch 11. Kaninchen 24.

14. I. 1 Uhr 39,5

1[15] Inj. von 25 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

	4 Uhr		39,5
	6 ›		40,0
	8 ›		40,5
	11 ›	nachts	40,15
15. I.	8 ›		39,55
	11 ›		38,85
	2 ›		39,15
	5 ›		39,4
	6 ›		39,6
	8 ›		39,8
	9 ›		39,8

Versuch 12. Kaninchen 23.

14. I. 1 Uhr 39,3

1[15] Inj. von 25 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

	4 Uhr	39,5
	6 ›	39,7
	8 ›	40,5
	11 ›	40,3

15. I. 8 Uhr		39,8
11 ›		39,05
2 ›		39,1
5 ›		38,9
6 ›		39,6
8 ›		39,85
9 ›		39,9

Versuch 13. Kaninchen 20. 3330 g.

5. I. 11 Uhr	vorm.	39,2
1 ›		38,8
4 ›		39,2
7 ›		39,15
12 ›	nachts	39,15
6. I. 1 Uhr		38,95
4 ›		39,5
5 ›		39,6
7 ›		39,45
7. I. 11 ›	vorm.	39,55

12 Uhr Inj. von 50 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

2 Uhr		39,35
5 ›		41,0
8 ›		41,05
8. I. 11 ›		39,05
1 ›		39,25
5 ›		39,95
7 ›		39,6

Versuch 14. Kaninchen 18. 2165 g.

4. I. 5 Uhr	nachm.	39,35
5. I. 11 ›	vorm.	39,05

11[15] Inj. von 50 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

1 Uhr		39,5
4 ›		40,7
7 ›		41,1
12 ›	nachts	40,0
6. I. 10 ›	vorm.	39,4
1 ›		39,2
4 ›		39,55
5 ›		39,6
7 ›		39,65
8 ›		39,3

Versuch 15. Kaninchen 11. 1190 g.

21. XII. 1 Uhr	mittags	39,2
22. XII. 10 ›		39,2

Inj. von 50 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

11 Uhr		39,25
4 ›		39,9
6 ›		40,0

Versuch 15 a.

21. XII. 1 Uhr	mittags	39,5
22. XII. 10 ›	vorm.	39,1

Inj. von 50 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

12 Uhr		39,25
1 ›		39,3
4 ›		40,1
6 ›		40,4
23. XII. 1 ›	mittags	40,65
3 ›		40,5
5 ›		40,55
6 ›		40,8
24. XII. 8 ›	vorm.	40,8
11 ›		40,85

28. XII. Exitus.

Sektion: Eitrige Peritonitis mit reichlichem serös fibrinösem Exsudat. In der Mitte des Rektums an der Hinterwand mehrfache Perforation. Hinter dem Rektum pflaumengroßer Abszeß; Hämorrhagien.

Versuch 16. Kaninchen 12. 870 g.

21. XII. 1 Uhr		39,6
6 ›		39,6
22. XII. 10 Uhr	vorm.	39,3

Inj. von 50 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

11 Uhr		39,0
1 ›		39,25
4 ›		40,1
6 ›		40,0

Versuch 17. Kaninchen 12.
Vgl. Versuch 16.

28. XII.	12 Uhr	39,7
29. XII.	11 › vorm.	38,9

Inj. von 50 ccm 0,75 % NaCl subkutan

	1 Uhr	40,0
	5 ›	40,7
	11 › nachts	40,0

Versuch 18. Kaninchen 21. 1805 g.

11. I.	6 Uhr abends	39,0
12. I.	11 › vorm.	39,1

12 Uhr Inj. von 50 ccm 2 % NaCl subkutan

	2 Uhr	39,2
	4 ›	40,05
	5 ›	39,9
	9 ›	40,3

Durchfall, schleimiger Stuhl.

13. I.	8 Uhr	39,4
	11 ›	39,0
	2 ›	39,05
	4 ›	39,45
	6 ›	40,1
	7 ›	40,65

Stuhl wie gestern, grofse Mattigkeit.

14. I.	11 Uhr	39,9
	4 ›	39,6
	5 ›	39,35
	8 ›	40,35
	11 ›	40,25

Versuch 19. Kaninchen 22. 1450 g.

11. I.	6 Uhr abends	39,85
12. I.	11 › vorm.	38,95

12 Uhr Inj. von 50 ccm 2 % NaCl subkutan

	2 Uhr	38,95
	4 ›	39,7
	5 ›	40,2
	9 ›	41,3
13. I.	8 ›	39,85
	11 ›	39,25
	2 ›	39,5
	4 ›	39,6
	6 ›	40,0
	7 ›	40,3
14. I.	11 ›	39,1
	4 ›	39,5
	6 ›	39,65
	8 ›	39,8
	10 ›	40,1

Zur besseren Übersicht sind die Versuche 1—19 in der Tabelle I (S. 21) zusammengestellt.

Aus der Tabelle I ersehen wir, dafs bei subkutaner Injektion physiologischer Kochsalzlösung Dosen unter 5 ccm pro Kilogramm Körpergewicht (kleinste absolute Menge 7,4 ccm) am Versuchstage selbst nie Fieber erzeugt haben. Nur einmal beobachteten wir in Versuch 2 eine kleine Fieberzacke bis 40,05° am Abend des folgenden Tages. Mit Rücksicht auf andere Versuche sind wir geneigt, dieses verspätete Fieber als den leichtesten Grad der Reaktion aufzufassen.

Bei Dosen von 5—23 ccm pro Kilogramm (absolute Mengen 7,4—50 ccm) haben wir ein eintägiges Fieber gesehen. Nur bei Anwendung gröfserer Mengen

Tabelle I.

Versuch Nr.	Tier Nr.	Subkutane Injektion von NaCl-Lösung			Absolute Menge NaCl in g		Temperatur am Tag der Injektion	
		Prozentgehalt d. Lösung	Menge in ccm pro Tier	Menge in ccm pro kg	pro Tier	pro kg	Maximum	Differenz
1	30	0,75	2,9	2,0	0,02175	0,01500	39,6	0,45
2	27	0,75	4,3	2,5	0,03225	0,01875	39,6	0,1
3	28	0,75	5,0	2,5	0,03750	0,01875	39,6	0,1
4	31	0,75	5,0	3,0	0,03750	0,02250	39,5	0,5
5	32	0,75	7,2	4,0	0,05400	0,03000	39,7	0,6
6	26	0,75	7,4	5,0	0,05550	0,03750	40,1	0,3
7	25	0,75	8,4	5,0	0,06300	0,03750	40,25	0,95
8	33	0,75	8,3	5,0	0,06225	0,03750	40,05	1,05
9	31	0,75	16,5	10,0	0,12375	0,07500	40,05	1,15
10	32	0,75	18,0	10,0	0,13500	0,07500	40,05	1,15
11	24	0,75	25,0	17,0	0,19050	0,10500	40,5	1,0
12	23	0,75	25,0	17,0	0,19050	0,12750	40,5	1,2
13	20	0,75	50,0	15,0	0,37500	0,11250	41.05	1,7
14	18	0,75	50,0	23,0	0,37500	0,17250	41,1	2,05
15	11	0,75	50,0	42,0	0,37500	0,31500	40,0	0,8
16	12	0,75	50,0	54,7	0,37500	0,41025	40,1	1,1
17	12	0,75	50,0	54,7	0,37500	0,41025	40,7	1,8
18	21	2,0	50,0	28,0	1,0	0,560	40,3	1,3
19	22	2,0	50,0	38,0	1,0	0,760	41,3	2,35

2 proz. Kochsalzlösung (28,0—38,0 pro Kilogramm = 50 ccm absolut) haben wir als Reaktion mehrtägige Temperatursteigerungen, zum Teil mit deutlichen Krankheitssymptomen erhalten. Es scheint also, als ob sich die Gröfse der Reaktion weniger in der Höhe des Fiebers als in seinem Anhalten über mehrere Tage zu erkennen gibt.

Zu beachten ist ferner, dafs das Fieber erst 6—8 Stunden nach der subkutanen Injektion aufzutreten pflegt.

II. Anaphylaktische Kaninchen.

Um möglichst einfache Verhältnisse zu schaffen, haben wir den Zustand der Anaphylaxie bei unseren Kaninchen zunächst lediglich durch Injektion artfremden Eiweifses erzeugt, hoffen aber später noch die zelluläre und bakterielle Überempfindlich-

keit in den Kreis unserer Untersuchung ziehen zu können. In dem gröfsten Teil der Fälle haben wir den Versuchstieren ungefähr 1 ccm Eiweifs pro Kilogramm Körpergewicht intravenös injiziert und haben dann zu bestimmten Zeiten die Tiere der Salzinjektion unterworfen. Wie wir aus anderen Versuchen wissen, bieten die so vorbehandelten Tiere etwa vom 12.—14. Tage ab mehr oder weniger deutliche anaphylaktische Symptome, wenn man eine zweite intravenöse Injektion vornimmt. Der Höhepunkt der Anaphylaxie scheint in der dritten und vierten Woche zu liegen.

Die Erscheinungen der Überempfindlichkeit bestehen in den bekannten Symptomen der Prostration, Müdigkeit, Kot- und Urinabsonderung usw. Der Tod tritt bei der zweiten Injektion nur in seltenen Fällen ein. Werden hingegen die nach vier Wochen reinjizierten Tiere 8 Tage nach der letzten Injektion wiederum mit artfremdem Serum intravenös behandelt, so sterben sie fast ausnahmslos. Auch in diesem Stadium der hochgradigen Überempfindlichkeit haben wir bei einigen Tieren das Verhalten gegenüber Salzinjektionen geprüft.

Diesen Versuchen reihen wir noch einige andere an, in denen die Vorbehandlung in etwas unregelmäfsiger Weise vorgenommen wurde; die entsprechenden Tiere zeigen weniger deutliche Zeichen von Anaphylaxie. Einzelne Kaninchen sind auch mit Kuhmilch und Eiereiweifs, zum Teil mit negativem Ergebnis, behandelt worden.

Versuch 20. Kaninchen 24. 1745 g.
Vgl. Versuch 11.

19. I. 09. Intrav. Inj. von 2,5 ccm Rinderserum

25. I.	11 Uhr vorm.	39,4
	2 »	39,3
	5 »	39,65
	7 »	39,2
26. I.	8 »	39,2

1 Uhr Inj. von 2,9 ccm 0,75 % NaCl subkutan

	5 Uhr	39,6
	8 »	39,15
27. I.	10 Uhr	39,8
	2 »	39,5 (Schnupfen)
	8 »	40,1
28. I.	11 »	40,2
	4 »	39,85 (Schnupfen)
	7 »	40,05
29. I.	8 »	38,2

Exitus.

Versuch 21. Kaninchen 23. 1550 g.
Vgl. Versuch 12.

19. I. Intrav. Inj. von 2,5 ccm Rinderserum

25. I.	11 Uhr vorm.	38,6
	2 ›	39,5
	5 ›	39,6
	7 ›	39,7
26. I.	8 ›	39,5

1 Uhr Inj. von 2,9 ccm 0,75% Na Cl subkutan

	2 Uhr	38,9
	5 ›	39,5
	8 ›	39,5
27. I.	10 ›	39,0
	2 ›	39,35
	7 ›	39,65

Versuch 22. Kaninchen 18.
Vgl. Versuch 14.
Gewicht am 21. I. 2280 g.

11. I. intrav. Inj. von 2,5 ccm Rinderserum

19. I.	5 Uhr abends	39,4
20. I.	1 ›	39,2
	3 ›	39,1
	6 ›	39,3
21. I.	11 ›	39,3

1 Uhr Inj. von 5,4 ccm 0,75% Na Cl subkutan

	3 Uhr	39,5
	6 ›	39,5
	7 ›	39,45
22. I.	8 ›	39,5
	3 ›	39,3
	6 ›	39,3

Versuch 23. Kaninchen 20.
Vgl. Versuch 13.
Gewicht am 21. I. 2870 g (inzwischen Partus).

11. I. intrav. Inj. von 2,5 ccm Rinderserum

25. I.	11 Uhr	39,1
	2 ›	39,4
	5 ›	39,45
	8 ›	39,6
26. I.	8 ›	39,2

1 Uhr Inj. von 5,5 ccm 0,75% Na Cl subkutan

	2 Uhr	39,35
	5 ›	40,1
	8 ›	39,35

Versuch 24. Kaninchen 9. 2225 g.

30. XI. 08 intrav. Inj. von 2,5 ccm Rinderserum.

17. XII. desgl. Stuhl und Urinentleerung, grofse Mattigkeit.

29. XII. Blutentnahme. Langsame Präzipitation. Titer $^{1}/_{100000}$.

Inj. von 50 ccm 0,75% Na Cl subkutan. Vgl. Versuch 34.

30. XII. Blutentnahme. Präzipitation wie oben.

5. I. }
7. I. } je 2,5 ccm Rinderserum intraperitonäal
11. I. }

25. I. Gewicht 2225 g

	11 Uhr	39,1
	2 ›	39,2
	5 ›	39,25
	8 ›	39,75
26. I.	8 ›	39,0

1 Uhr Inj. von 4,7 ccm 0,75% Na Cl subkutan

	2 Uhr	39,2
	5 ›	39,8
	8 ›	40,0
27. I.	10 ›	39,4
	2 ›	40,15
	8 ›	40,3

Versuch 25. Kaninchen 6. 2770 g.

19. XI. 08. Intrav. Inj. von 5 ccm Rinderserum.

17. XII. desgl. Dyspnoe. Grofse Mattigkeit.

29. XII. Blutentnahme. Sehr langsame Präzipitation. Titer $^{1}/_{100000}$.

Inj. von 50 ccm 0,75 % Na Cl subkutan. Vgl. Versuch 32.

30. XII. Blutentnahme. Präzipitation wie oben.

5. I. }
7. I. } je 2,5 ccm Rinderserum intraperitonäal.
11. I. }

25. I. Gewicht 2770 g.

	11 Uhr	39,5
	2 »	39,3
	5 »	39,6
	8 »	39,5
26. I.	8 »	39,4

1 Uhr Inj. von 5,3 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

	2 Uhr	39,5
	5 »	40,2
	8 »	39,9
27. I.	10 »	39,6
	2 »	39,9
	8 »	39,6

Versuch 26. Kaninchen 9. Vgl. Versuch 24.

18. I. Gewicht 2320 g.

	11 Uhr	39,7

12 Uhr Inj. 5,8 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

	4 Uhr	40,3
	6 »	40,65
	7 »	39,75
19. I.	8 »	40,2
	4 »	40,1
	7 »	39,95
20. I.	10 »	39,55
	3 »	39,3
	6 »	39,6

Versuch 27. Kaninchen 6. Vgl. Versuch 25.

18. I. Gewicht 2720 g.

	11 Uhr	39,75

12 Uhr Inj. von 6,8 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

	4 Uhr	40,0
	6 »	40,1
	7 »	39,95
19. I.	8 »	39,6
	4 »	39,6
	7 »	39,8

Versuch 28. Kaninchen 20. Vgl. Versuch 23.

19. I. Gewicht 2870 g.

	5 Uhr	38,7
20. I.	10 » morg.	39,7
	3 »	39,4
	6 »	39,65
21. I.	10 »	39,7

1 Uhr Inj. von 11,6 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

	3 Uhr	39,3
	6 »	40,15
	7 »	39,8
22. I.	8 »	39,1
	2 »	39,6
	6 »	39,6

Versuch 29. Kaninchen 20. Vgl. Versuch 23. Gewicht 2730 g.

31. I.	12 Uhr mittags	39,25
	8 » abends	39,75
1. II.	11 »	39,6

12 Uhr Inj. von 27,3 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

	3 Uhr	40,3
	7 »	40,55
	8 »	40,95
2. II.	8 »	40,1
	2 »	39,6
	6 »	39,9

8. II. Intrav. Inj. von 3 ccm Rinderserum

Krank. Mattigkeit. Später Erholung.

Versuch 30. Kaninchen 15. 2300 g.

24. XII. 08. Intrav. Inj. von 2,5 ccm 0,75 % NaCl subkutan

14. I. 09	1 Uhr		39,9

Inj. von 25 ccm 0,75 % NaCl subkutan

	4 Uhr		40,3
	6 ›		40,9
	8 ›		41,25
	11 ›	abends	40,8
15. I. 09	8 ›		39,1
	11 ›		39,1
	2 ›		39,25
	5 ›		40,0
	6 ›		40,95
	8 ›		41,15
	9 ›		41,2

Am 22. I. gesund.

Versuch 31. Kaninchen 14. 2300 g.

24. XII. 08. Intrav. Inj. von 2,5 ccm Rinderserum

14. I. 09	1 Uhr	39,4

Inj. von 25 ccm 0,75 % NaCl subkutan

	4 Uhr	39,7
	6 ›	40,4
	8 ›	40,5
	11 ›	40,1
15. I. 09	8 Uhr	39,2
	11 ›	39,2
	2 ›	39,3
	5 ›	40,0
	6 ›	40,4
	8 ›	40,55

Noch einige Tage abends Temperaturen über 40 °.

Versuch 32. Kaninchen 6.
Vgl. Versuch 27.

28. XII.	1 Uhr	mittags	39,5
29. XII.	10 ›		38,6

Inj. von 50 ccm 0,75 % NaCl subkutan

	1 Uhr		39,0
	5 ›		40,1
	11 ›	abends	40,5
30. XII.	10 ›		39,0
	12 ›		40,0
	2 ›		40,55
	5 ›		39,9
	8 ›		40,2

Versuch 33. Kaninchen 3. 2335 g.

17. XI. 08. Intrav. Inj. von 2,5 ccm Rinderserum.

19. XI., 21. XI., 24. XI., 27. XI. } Desgl.

4. XII. Blutentnahme. Präzipitation schnell. Titer 1/100 000.

5. XII., 7. XII., 11. XII. } 2,5 ccm Rinderserum intraperitonäal

19. XII. Blutentnahme. Schnelle Präzipitation. Titer 1/100000.

23. XII., 29. XII. } 2,5 ccm Rinderserum intraperitonäal.

4. I. 09. Blutentnahme. Schnelle Präzipitation. Titer 1/10 000.

5. I. 09	11 Uhr	39,5

Inj. von 50 ccm 0,75 % NaCl subkutan

	1 Uhr		39,65
	4 ›		40,75
	7 ›		41,1
	11 ›	abends	40,15
6. I.	10 ›		39,2
	1 ›		39,2
	4 ›		39,7
	5 ›		39,85
	7 ›		40,4
	8 ›		40,15
7. I.	11 ›		39,0
	2 ›		39,2
	5 ›		39,75
	7 ›		40,1

8. I. 11 Uhr 39,05
1 › 39,15
5 › 39,4
7 › 39,75

Blutentnahme, Präzipitation unverändert.

Versuch 34. Kaninchen 9.
Vgl. Versuch 26.

28. XII. 12 Uhr mittags 39,2
29. XII. 10 › 39,05

Inj. von 50 ccm 0,75 % NaCl subkutan

1 Uhr 40,0
5 › 40,4
11 › 40,1
30. XII. 10 › 39,3
12 › 40,3
2 › 40,4
5 › 40,0
8 › 40,15

Versuch 35. Kaninchen 29.
2200 g.

Im Zwischenraum von drei Wochen zwei intravenöse Injektionen von je 2,5 ccm Rinderserum. Nach der zweiten Injektion krank, später Erholung. Darauf in gröfseren Zeitabständen mehrmals 2,5 ccm Rinderserum intraperitoneal.

11. I. 6 Uhr abends 39,5
12. I. 11 › 39,6

12 Uhr Inj. von 50 ccm 2 % NaCl subkutan

2 Uhr 39,5
4 › 40,6
5 › 40,7
9 › 40,0
13. I. 8 › 39,6
11 › 39,85
2 › 39,85
4 › 39,75
6 › 40,1
7 › 39,95

14. I. 11 Uhr 39,7
4 › 39,6
6 › 39,8
7 › 39,85
10 › abends 39,75

Versuch 36. Kaninchen 3.
Vgl. Versuch 33.

12. I. 11 Uhr 39,0

12 Uhr Inj. von 50 ccm 2 % NaCl subkutan

2 Uhr 39,2
4 › 40,55
5 › 40,7
9 › 40,3
13. I. 8 Uhr morg. 41,1
11 › 39,2
2 › 39,35
4 › 39,6
6 › 39,95
7 › 39,85

Noch 3 Tage Morgentemperaturen über 40°.

Versuch 37. Kaninchen 2. 2250 g.

27. X. 08. 2,5 ccm Kuhmilch intravenös.

28. XI. 08. 2,5 ccm Kuhmilch intraperitonäal, nicht krank.

15. XII. 08. 2,5 ccm Kuhmilch intraperitonäal, nicht krank.

21. I. 3 Uhr nachm. 39,7
6 › 39,85
8 › 39,8
22. I. 8 › 39,2

12 Uhr Inj. von 4,5 ccm 0,75 % NaCl subkutan

2 Uhr 39,55
6 › 39,55

Versuch 38. Kaninchen 7. 2605 g.

15. XII. 08. 3 ccm Eiereiweifs intravenös.

21. I. 09 3 Uhr nachm. 39,6
6 › 39,75
7 › 39,6
22. I. 8 › 38,8

12 Uhr Inj. von 5,2 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

2	Uhr	39,5
6	»	39,5

Versuch 39. Kaninchen 7.

Vgl. Versuch 38.

7. I.	12	Uhr mittags	39,2
	3	»	39,7
	6	»	39,4
	8	»	39,7
8. I.	11	»	38,85

1 Uhr Inj. von 50 ccm 0,75 % Na Cl subkutan

	1 15	Uhr		39,3
	5	»		39,95
	7	»		40,95
9. I.	8	»	vorm.	39,2
	11	»		39,2
	2	»		39,4
	5	»		39,55
	8	»		40,1

30. I. 2,5 ccm Eiereiweifs intravenös. Nicht krank.

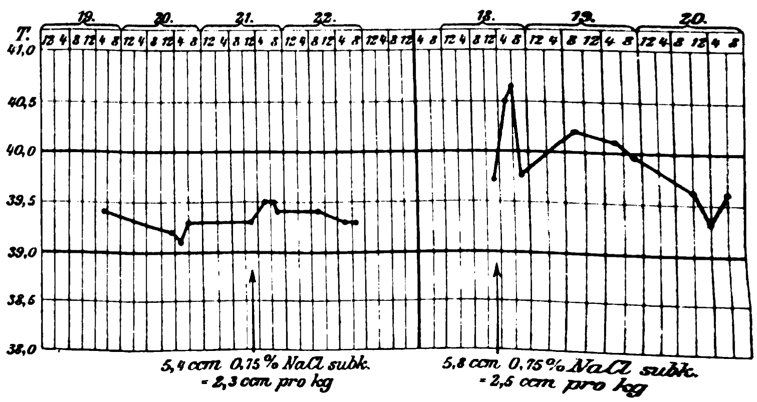
Wir fassen die Resultate der Versuche 20—39 noch einmal in folgender Tabelle zusammen.

Tabelle II.

Versuch Nr.	Tier Nr.	Subkutane Injektion von Na Cl-Lösung			Absolute Menge Na Cl in g		Temperatur am Tag der Injektion	
		Prozentgehalt der Lösung	Menge in ccm pro Tier	Menge in ccm pro kg	pro Tier	pro kg	Maximum	Differenz
20	24	0,75	2,9	2,0	0,02175	0,01500	39,6	0,45
21	23	0,75	2,9	2,0	0,02175	0,01500	39,5	0,6
22	18	0,75	5,4	2,0	0,04050	0,01500	39,5	0,2
23	20	0,75	5,5	2,0	0,04125	0,01500	40,1	0,9
24	9	0,75	4,7	2,0	0,03525	0,01500	40,0	1,0
25	6	0,75	5,3	2,0	0,03975	0,01500	40,2	0,8
26	9	0,75	5,8	2,5	0,04350	0,01875	40,65	—
27	6	0,75	6,8	2,5	0,05100	0,01875	40,1	—
28	20	0,75	11,6	4,0	0,08700	0,03000	40,15	0,85
29	20	0,75	27,3	10,0	0,20475	0,07500	40,95	1,35
30	15	0,75	25,0	10,0	0,19050	0,07500	41,25	1,35
31	14	0,75	25,0	10,0	0,19050	0,07500	40,5	1,3
32	6	0,75	50,0	19,0	0,37500	0,14250	40,5	1,1
33	3	0,75	50,0	21,8	0,37500	0,15973	41,1	1,6
34	9	0,75	50,0	23,0	0,37500	0,17250	40,4	1,35
35	29	2,0	50,0	22,7	1,0	0,45454	40,7	1,2
36	3	2,0	50,0	22,0	1,0	0,440	40,7	1,7
37	2	0,75	4,5	2,0	0,03375	0,01500	39,55	0,35
38	7	0,75	5,2	2,0	0,04300	0,01500	39,5	0,7
39	7	0,75	50,0	25,0	0,37500	0,19050	40,95	2,1

Die Tabelle II läfst erkennen, dafs die Tiere 7 Tage nach der ersten intravenösen Seruminjektion, so weit wir sie geprüft haben, sich wie normale verhalten. Auch ein nach 10 Tagen injiziertes Tier zeigte keine Abweichungen.

Hingegen weisen alle anderen, die in einem Zeitraum von mindestens 15 Tagen nach der Injektion untersucht wurden, eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber der Kochsalzinfusion auf. Dieses Moment gewinnt eine besondere Bedeutung, sobald wir uns erinnern, dafs etwa 14 Tage nach der Serumeinspritzung auch



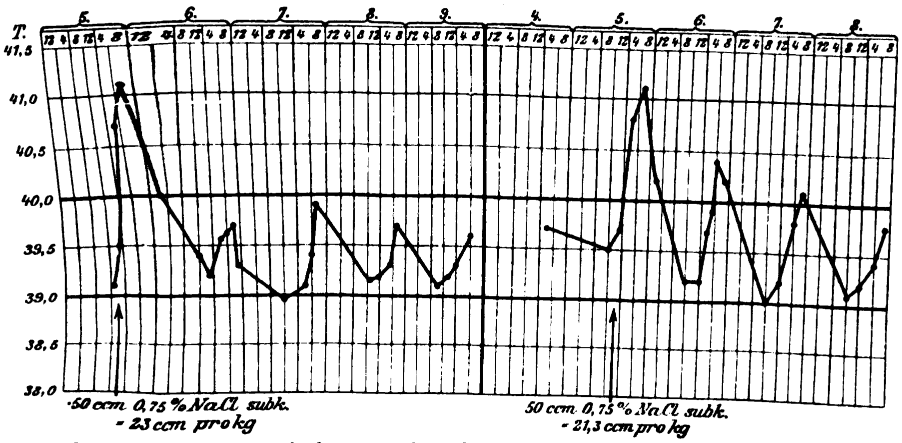
Kurve 1. Versuch 22. Kaninchen 18. Normal. (10 Tage nach der 1. Injektion.) Versuch 26. Kaninchen 9. Anaphylaktisch.

eine Reinjektion des homologen Eiweifskörpers mit dem Auftreten deutlicher, anaphylaktischer Symptome beantwortet zu werden pflegt. Wir müssen deshalb annehmen, dafs der mit Rinderserum vorbehandelte Kaninchenorganismus gleichzeitig mit der spezifischen Anaphylaxie eine Allergie gegenüber dem subkutan injizierten Kochsalz erworben hat. Der Unterschied in der Reaktion der normalen und überempfindlichen Tieren erstreckt sich auf folgende drei Punkte:

1. Die anaphylaktischen Tiere reagieren auf geringere Salzmengen als normale mit Fieber; so zeigt es sich, dafs alle wirklich überempfindlichen Tiere; die mit 2,0 resp. 2,5 ccm pro Kilogramm injiziert wurden, deutliches Fieber bekamen, während bei normalen Tieren erst auf 5,0 ccm pro Kilogramm Temperatursteigerungen erzielt werden konnten (siehe Kurve 1).

2. Bei Anwendung mittlerer Dosen, ca. 10 ccm pro Kilogramm, einmal sogar schon bei 2,5 ccm (siehe Vers. 26), verhalten sich die überempfindlichen Tiere wie diejenigen normalen, die mit grofsen Mengen 2⁰/₀ Kochsalzlösung behandelt worden sind, d. h. sie reagieren mit einem über mehrere Tage sich erstreckenden Fieber (vgl. z. B. Vers. 30, in dem nach Injektion von 10 ccm pro Kilogramm dreitägiges Fieber aufgetreten ist) (siehe Kurve 2).

Punkt 1 und 2 müssen nach v. Pirquet als Zeichen einer quantitativ veränderten Reaktionsfähigkeit gedeutet werden.



Kurve 2. Versuch 14. Kaninchen 18. Normal. Versuch 33. Kaninchen. Anaphylaktisch.

3. Es scheint, dafs bei den überempfindlichen Kaninchen sich die Fieberreaktion früher einstellt als bei den normalen, so haben wir in einzelnen Fällen schon nach 2—3 Stunden deutliche Temperatursteigerungen beobachtet, während der Anstieg bei normalen im allgemeinen erst nach 6—8 Stunden erschien (zeitlich veränderte Reaktionsfähigkeit).

Diesen Resultaten fügen wir noch die Versuche 37, 38 und 39 an. Es handelt sich hier um 2 Tiere, die in allerdings sehr unregelmäfsiger Weise mit Kuhmilch resp. Eiereiweifs behandelt worden sind und sich bei der Injektion mit Kochsalzlösung nicht von normalen Tieren unterschieden haben.

Die Nachprüfung durch intravenöse Injektion mit dem homologen Eiweifskörper ergab in diesen Fällen, dafs die Tiere sich nicht im Zustand der Überempfindlichkeit befanden.

Natürlich glauben wir nicht, dafs die hier aufgefundene Gesetzmäfsigkeit eine absolut strenge ist, und wir halten es durchaus für möglich, dafs bei der Wiederholung dieser Versuche an einem noch gröfseren Material sich vereinzelte Fälle einstellen können, die aus dem Rahmen unserer Resultate etwas herausfallen.

Bei Tierversuchen auf dem Gebiet der Immunitätslehre und speziell der Überempfindlichkeit spielen individuelle Abweichungen bekanntlich eine grofse Rolle. Da aber die hier zutage getretenen Unterschiede zwischen normalen und überempfindlichen Tieren recht konstant erscheinen, dürfen wir anderseits ihren Wert nicht unterschätzen. Die Untersuchungen von Finkelstein und Meyer an kranken und gesunden Säuglingen mit einer ganz ähnlichen Versuchsanordnung haben ja ergeben, dafs die hier erhaltenen Differenzen nur quantitativ und nicht sehr erheblich sind.

Anmerkung. Es sei beiläufig erwähnt, dafs wir einigemal, bei Kaninchen 3, 6 und 9 (vgl. die entsprechenden Protokolle) vor und nach der Salzinfusion auch den Präzipitationstiter geprüft haben. Eine Änderung des Titers hat sich dabei nicht konstatieren lassen.

B. Versuche mit intravenöser Injektion von Kochsalzlösung.

I. Normale Kaninchen.

Obwohl die in dieser Arbeit mitgeteilten Experimente nicht eigentlich dazu dienen sollten, den Mechanismus des Salzfiebers aufzuklären[1]), so wollen wir doch kurz auf die Gesichtspunkte eingehen, die uns veranlafsten, auch die intravenösen Infusionen heranzuziehen.

Begreiflicherweise interessierte es uns vor allem zu prüfen, ob das Kochsalz lokal, am Ort der Injektion, oder nach Aufnahme in die Blutbahn wirke, eine Frage, die auch schon von Meyer und Rietschel ventiliert worden ist. Ist der Übergang von Kochsalz in die Blutbahn Voraussetzung für seine Wirkung, so müfsten wir erwarten, dafs bei der intravenösen Injektion schon mit kleineren Mengen eine Reaktion zu erzielen sei.

1) Wir hoffen, demnächst an anderem Orte über unsere diesbezüglichen Untersuchungen berichten zu können.

Die Versuchsanordnung wurde für diese Frage nur insofern geändert, als wir die Tiere vor und nach der intravenösen Injektion, alle halbe Stunde gemessen haben, da ja ein rascherer Ablauf der gesamten Erscheinungen wahrscheinlich war. In den meisten Fällen haben wir die Tiere, um über ihre Temperaturkurve gut unterrichtet zu sein, bereits an dem ganzen dem Versuche vorhergehenden Tage gemessen.

Es folgen zunächst wieder die entsprechenden Protokolle.

Versuch 40. Kaninchen 34. 1407 g.

28. I.	4 Uhr	39,4
	4^{15} »	39,7
	4^{30} »	39,15
	4^{45} »	39,2

5 Uhr intrav. Inj. 7 ccm 0,75 % Na Cl

	5^{05} Uhr	39,1
	5^{15} »	39,2
	5^{30} »	39,1
	5^{45} »	39,2
	6 »	39,3
	6^{30} »	39,5
	7 »	39,65
	7^{30} »	39,75
	8 »	39,75
29. I.	8 » früh	39,1
	6 »	39,35

Versuch 41. Kaninchen 35. 1700 g.

29. I.	10^{15} Uhr	39,1
	10^{40} »	39,1
	11^{20} »	39,1

11^{35} Uhr intrav. Inj. von 10,2 ccm 0,75 % Na Cl

	12^{15} Uhr	39,3
	1^{10} »	39,5
	2 »	39,5
	3 »	39,7
	4 »	39,3
	5 »	39,5
	6 »	39,55
	8^{30} »	392,
30. I.	8 »	39,6
	9 »	39,7
	11^{30} Uhr	39,05
	4^{45} »	39,4
	5^{30} »	39,4
	7^{15} »	39,3

Versuch 42. Kaninchen 49. 1690 g.

15. II.	10^{20} Uhr	39,6
	10^{40} »	39,4
	11 »	39,3

Intrav. Inj. von 11 ccm 0,85 % Na Cl

	11^{30} Uhr	39,7
	12 »	39,75
	12^{30} »	39,75
	1 »	39,9
	1^{30} »	39,8
	2 »	39,55
	2^{30} »	39,5
	3 »	39,5
	3^{30} »	39,6
	4 »	39,6
	4^{30} »	39,65
	5 »	39,65
	6 »	39,4
	7 »	39,75

Versuch 43. Kaninchen 50. 1530 g.
Vgl. Versuch 45.

15. II.	10^{20} »	38,9

11 Uhr intrav. Inj. von 11,5 ccm 0,75 % Na Cl

	11^{30} Uhr	39,25
	12 »	39,6
	12^{30} »	39,65
	1 »	39,8

1^{30} Uhr	39,7
2 »	39,7
2^{30} »	39,75
3 »	39,7
3^{30} »	39,55
4 »	39,7
4^{30} »	39,7
5 »	39,5
6 »	39,6
7 »	39,85

Versuch 44. Kaninchen 48. 1470 g.
Vgl. Versuch 54.

15. II.	10^{20} Uhr	37,1

11 Uhr intrav. Inj. von 13,5 ccm 0,6 % Na Cl.

11^{30} Uhr	39,9
12 »	39,85
12^{30} »	39,9
1 »	39,85
1^{30} »	39,5
2 »	39,5
2^{30} »	39,5
3 »	39,6
3^{30} »	39,5
4 »	39,7
4^{30} »	39,6
5 »	39,6
6 »	39,5
7 »	39,6

Versuch 45. Kaninchen 50.
Vgl. Versuch 43.

18. II.	10 Uhr	39,0
	10^{30} »	39,2
	11 »	39,35
	12 »	39,7
	12^{30} »	39,5

1 Uhr intrav. Inj. von 14 ccm 0,6 % Na Cl

1 Uhr	39.5
1^{30} »	40,15
2 »	40,3
2^{30} »	40,4
3 »	40,5
3^{30} Uhr	40,2
4 »	39,8
4^{30} »	39,6
5 »	39,7
6 »	39,6

Versuch 46. Kaninchen 35. 1650 g.
Vgl. Versuch 41.

1. II.	11 Uhr	39,5
	1 »	39,2

1^{15} Uhr intrav. Inj. von 16,5 ccm 0,85 % Na Cl

1^{45} Uhr	39,3
2^{15} »	39,4
2^{45} »	39,45
3^{15} »	39,6
4 »	39,4
4^{50} »	39,3
5^{45} »	39,05
7 »	39,45

Versuch 47. Kaninchen 53. 159[illegible] g.

19. II.	12^{45} Uhr	38,8
	1^{30} »	38,9
	2 »	38,9
	2^{30} »	39,0
	3 »	39,1
	3^{30} »	39,25
	4 »	39,3
	4^{30} »	39,2
	5 »	39,3
	5^{30} »	39,3
	6 »	39,45
20. II.	8 »	38,8
	8^{30} »	38,8
	9 »	38,75
	9^{30} »	38,7
	10 »	38,75
	10^{30} »	38,85
	11 »	39,0
	11^{30} »	38,6
	12 »	38,75
	12^{30} »	38,65

12 35 Uhr intrav. Inj. von 15 ccm
0,6 % Na Cl

1	Uhr	39,2
1 30	»	39,7
2	»	40,0
2 30	»	40,4
3	»	40,3
3 30	»	40,1
4	»	40,1
4 30	»	40,15
5	»	40,1
6	»	39,7

Versuch 48. Kaninchen 49.
Vgl. Versuch 42.

10 50	Uhr	39,4
11 40	»	39,2

12 5 Uhr intrav. Inj. von 22 ccm
0,85 % Na Cl

12 30	Uhr	39,5
1	»	40,4
1 30	»	40,3
2	»	40,1
2 30	»	40,1
3	»	40,6
3 30	»	39,7
4	»	39,3
4 30	»	39,75
5	»	39,1
6	»	39,4
7 20	»	39,3

Versuch 49. Kaninchen 52. 1610 g.

19. II.	12 45	Uhr	39,2
	1 30	»	39,15
	2	»	39,2
	2 30	»	39,4
	3	»	39,45
	3 30	»	39,4
	4	»	39,45
	4 30	»	39,5
	5	»	39,4
	5 30	»	39,3
	6	»	39,5
20. II.	8	»	39,1

8 30	Uhr	39,15
9	»	39,2
9 30	»	39,1
10	»	39,0
10 30	»	39,1
11	»	39,1
11 30	»	39,1
12	»	39,1
12 30	»	39,15

12 35 Uhr intrav. Inj. 20 ccm
0,6 % Na Cl

1	Uhr	39,4
1 30	»	39,8
2	»	40,2
2 30	»	39,9
3	»	39,75
3 30	»	39,8
4	»	39,75
4 30	»	39,4
5	»	39,2
6	»	39,2

Versuch 50. Kaninchen 43.
Vgl. Versuch 40.

30. I. 9 Uhr 38,6

11 35 Uhr intrav. Inj. von 20 ccm
0,75 % Na Cl

11 40	Uhr	38,75
12	»	38,85
12 30	»	39,45
1	»	39,5
1 30	»	39,5
2	»	39,5
2 30	»	39,55
3	»	39,4
4	»	39,35
5	»	39,35
5 30	»	39,6
6	»	39,0
7	»	38,8
8	»	38,7

Versuch 51. Kaninchen 50.
Vgl. Versuch 45.

13. II.	10 55	Uhr	39,0
	11 40	»	38,7

12 10 Uhr intrav. Inj. von 23 ccm 0,75 % Na Cl

12 30	Uhr	38,9
1	»	39,4
1 30	»	39,9
2	»	39,7
2 30	»	39,6
3	»	39,65
3 30	»	39,5
4	»	39,55
4 30	»	39,35
5	»	38,9
6	»	39,35
7 30	»	39,45

Versuch 52. Kaninchen 51. 1450 g.

19. II.	12 45	Uhr	38,9
	1 30	»	39,2
	2	»	39,25
	2 30	»	39,2
	3	»	39,3
	3 30	»	39,5
	4	»	39,4
	4 30	»	39,3
	5	»	39,1
	5 30	»	39,2
	6	»	39,3
20. II.	8	»	39,3
	8 30	»	39,4
	9	»	39,3
	9 30	»	39,2
	10	»	39,2
	10 30	»	39,2
	11	»	39,4
	11 30	»	39,5
	12	»	39,5
	12 30	»	39,4

12 35 Uhr intrav. Inj. von 25 ccm 0,6 % Na Cl

1	Uhr	39,7
1 30	»	40,0
2	»	40,6
2 30	»	40,3
3	»	40,2
3 30	»	39,9
4	»	39,8
4 30	Uhr	39,8
5	»	39,75
6	»	39,7

Versuch 53. **Kaninchen 36. 1205 g.**

12. II. 11 20 **Uhr** **39,25**

11 30 **Uhr intrav. Inj. von 20 ccm 0,85 % Na Cl**

12	Uhr	39,7
12 30	»	39,95
1	Uhr	40,4
1 30	»	40,15
2	»	40,2
2 30	»	40,5
3	»	40,2
3 30	»	39,9
4	»	39,65
5	»	39,4
6 45	»	39,4
7 45	»	39,6

Versuch 54. **Kaninchen 48.**
Vgl. Versuch 44.

13. II.	10 55	»	39,3
	11 40	»	39,1

12 Uhr **intrav. Inj. von 27 ccm 0,6 % Na Cl**

12 30	Uhr	39,1
1 30	»	39,9
2	»	39,7
2 30	»	39,6
3	»	39,7
3 30	»	39,4
4	»	39,5
4 30	»	39,4
5	»	39,3
5 50	»	39,3
7 15	»	39,5

Versuch 55. **Kaninchen 49.**
Vgl. Versuch 48.

18. II.	10	Uhr	39,2
	10 30	»	39,4
	11	»	39,6
	12	»	39,5
	12 30	»	39,45

12 55 Uhr intrav. Inj. von 30 ccm 0,6 % Na Cl

	1 Uhr	39,5
	1 30 »	39,75
	2 »	40,4
	2 30 »	40,3
	3 »	40,25
	3 30 »	40,1
	4 »	39,6
	4 30 »	39,5
	5 »	39,45
	6 »	39,4
19. II.	8 »	39,3
	8 30 »	39,25
	9 »	39,1
	9 30 »	39,2
	2 45 »	39,25
	6 »	39,4

Versuch 56. Kaninchen 39. 1440 g.

11. II. 09	12 Uhr	39,1
	12 20 »	38,9

12 30 Uhr intrav. Inj. von 7,5 ccm 2% Na Cl

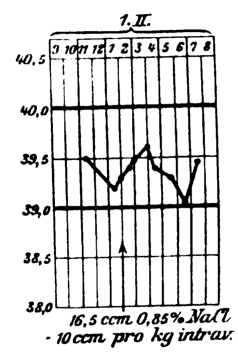
	12 40 Uhr	39,1
	1 »	39,25
	1 30 »	39,8
	2 »	40,25
	2 30 »	40,2
	3 »	39,9
	4 »	39,3
	5 »	39,65
	6 20 »	39,3
	7 45 »	39,1
12. II.	8 » morg.	39,1
	2 30 »	39,0
	7 15 »	39,6

Die Versuche 40—56 sind in der folgenden Tabelle III noch einmal kurz mit ihren Resultaten aufgeführt.

Tabelle III.

Versuch Nr.	Tier Nr.	Intravenöse Injektion von NaCl-Lösung			Absolute Menge NaCl in g		Temperatur am Tag der Injektion	
		Prozentgehalt der Lösung	Menge in ccm pro Tier	Menge in ccm pro kg	pro Tier	pro kg	Maximum	Differenz
40	34	0,75	7,0	5,0	0,0525	0,0375	39,75	0,65
41	35	0,75	10,2	6,0	0,0765	0,0450	39,7	0,6
42	49	0,85	11,0	6,5	0,0935	0,0552	39,9	0,6
43	50	0,75	11,5	7,5	0,0863	0,0563	39,85	0,95
44	48	0,6	13,5	9,0	0,0810	0,0540	39,9	0,8
45	50	0,6	14,0	9,0	0,0840	0,0540	40,5	1,5
46	35	0,85	16,5	10,0	0,1403	0,0850	39,6	0,55
47	53	0,6	15,0	10,0	0,0900	0,0600	40,4	1,8
48	49	0,85	22,0	13,0	0,1870	0,1104	40,4	1,3
49	52	0,6	20,0	12,5	0,1200	0,0750	40,2	1,2
50	34	0,75	20,0	14,0	0,1500	0,1050	39,6	1,0
51	50	0,75	23,0	15,0	0,1726	0,1126	39,9	1,2
52	51	0,6	25,0	17,0	0,1500	0,1020	40,6	1,4
53	36	0,85	20,0	17,0	0,1700	0,1445	40,5	1,25
54	48	0,6	27,0	18,0	0,1620	0,1080	39,9	0,8
55	49	0,6	30,0	18,0	0,1800	0,1080	40,4	1,2
56	39	2,0	7,5	5,0	0,1500	0,1000	40,25	1,35

Das auffälligste und von uns zunächst gar nicht erwartete Resultat dieser Versuche ist die Tatsache, **dafs bei der intravenösen Injektion gröfsere Salzmengen nötig sind, um Fieber zu erzielen, als bei der subkutanen** (vgl. Tabelle I u. III). Während wir auf letzterem Wege mit 5 ccm 0,75 % Kochsalzlösung pro Kilogramm Körpergewicht bei normalen Tieren stets Fieber erzeugen konnten, zeigen Versuch 50 und 54, dafs nach intravenöser Infusion sogar von 14 resp. 18 ccm pro Kilogramm keine Temperaturerhöhung eintrat (siehe z. B. Kurve 3). Aufserdem haben uns diese Versuche belehrt, dafs die intravenösen Injektionen wunderbarerweise viel unregelmäfsigere Resultate liefern als die subkutanen. So reagierte Kaninchen 53



Kurve 3.
Versuch 46. Kaninchen 35. Normal.

(Vers. 42) bereits auf die Injektion von 10 ccm pro Kilogramm, immerhin ist auch diese kleinste wirksame Menge doppelt so grofs als die Minimaldosis bei subkutaner Injektion.

Besonders wollen wir noch Kaninchen 50 anführen, das im Versuch 45 schon auf 9,0 ccm pro Kilogramm bis 40,5 reagierte.

Wir können uns hier wie in einigen anderen Versuchen des Eindrucks nicht erwehren, dafs die gehäuften Injektionen (3 Versuche in 6 Tagen) die Tiere gegen das Salz empfindlicher machen.[1])

---

1) Bei dieser Gelegenheit wollen wir auch eine Beobachtung erwähnen, für die wir zwar eine Erklärung nicht abgeben möchten; immerhin erscheint sie uns sehr auffällig. Ein grofser Teil der intravenös mit steriler Kochsalzlösung und einigen anderen aseptischen Substanzen behandelten Tiere ging einige Tage bis Wochen später unter neuerlichem Fieberanstieg zugrunde, ohne dafs bei der Sektion pathologisch anatomisch sicht-

Für die gröfsere Wirksamkeit der subkutanen Injektion liegen verschiedene Erklärungsmöglichkeiten vor. Zunächst ist daran zu denken, dafs bei subkutaner Zufuhr das Kochsalz langsamer ausgeschieden wird und daher länger Gelegenheit hat, auf den Organismus einzuwirken. Wir neigen allerdings der Ansicht zu, dafs dem Kochsalz noch eine besondere lokale Wirkung zukommt. Wir begnügen uns mit einer kurzen Andeutung und hoffen, diese Auffassung demnächst durch Versuche belegen zu können.

„Eingehende Untersuchungen über den Einflufs der Konzentration und des Volumens der Kochsalzlösung auf die Temperatur haben wir nicht angestellt. Jedenfalls geht aber aus unseren Experimenten hervor, dafs dem osmotischen Druck der injizierten Lösung eine ausschlaggebende Bedeutung nicht zukommt, da auch isotonische, ja selbst 0,6% Lösungen bei Anwendung geeigneter Mengen Fieber hervorzurufen vermögen. Ebenso übt das Quantum der injizierten Flüssigkeit keinen grofsen Einflufs auf das Resultat aus. Es scheint vielmehr, als ob die Reaktion lediglich vom absoluten Salzgehalt abhängig sei.

Das nach der intravenösen Injektion auftretende Fieber steigt unmittelbar nach der Injektion schnell an, erreicht etwa 2 Stunden danach sein Fastigium, um dann meistens etwas langsamer wieder abzufallen. Zwischen Fastigium und Abfall der Temperatur schiebt sich häufig noch eine zweite Zacke ein, die der ersten etwa nach 1½—2 Stunden folgt.

Das der intravenösen Infusion folgende Fieber zeichnet sich demgemäfs vor dem nach subkutaner Einspritzung dadurch aus,

---

bare Veränderungen zu erkennen waren. Regelmäfsig fand sich jedoch im Blut und in der Flüssigkeit der serösen Höhlen mikroskopisch in Reinkultur ein Pneumokokken ähnliches Bakterium. Es wäre nicht ganz ausgeschlossen, dafs die häufigen Messungen im Mastdarm die Infektion mit verschuldet haben, aber anderseits müssen wir doch mit der Möglichkeit rechnen, dafs hier eine resistenzvermindernde Wirkung der injizierten Substanz vorliegt. In diesem Zusammenhang sei an die interessanten Versuche von Nicolle (Ann. Pasteur, 1907) erinnert, der fast seine sämtlichen Tiere, die er mit Serum anaphylaktisch gemacht hatte, an Pseudopneumokokkeninfektion eingehen sah.

daſs die Fieberhöhe viel schneller erreicht wird und infolgedessen der Ablauf ein bedeutend kürzerer ist. Wir erwähnten schon weiter oben, daſs wir in der vorliegenden Arbeit auf die theoretischen Folgerungen, welche sich aus diesen und schon angeführten Nebenbefunden ergeben, nicht näher einzugehen beabsichtigen. Wir müssen darauf verzichten, so verlockend es auch erscheinen mag, da wir uns zu sehr von unserem Thema entfernen würden.

II. Anaphylaktische Kaninchen.

Über die Art, wie wir in den folgenden Versuchen die Anaphylaxie erzeugt haben, brauchen wir nichts weiter zu erwähnen, da sie der oben ausführlich beschriebenen entspricht. Ebenso ist über die weitere Versuchsanordnung neues nicht hinzuzufügen. Wir beginnen daher sogleich mit der Mitteilung der Protokolle.

Versuch 57. Kaninchen 54. 1500 g.

27. I. Intrav. Inj. von 1,5 ccm Rinderserum.

17. II. Intrav. Inj. von 1,5 ccm Rinderserum. Krank. Erholung.

24. II.	1 Uhr	38,6
	2 »	38,75
	3 »	38,85
	4 »	39,0
	5 »	39,1
	6 »	39,2
25. II.	10 »	38,7

10^{45} Uhr intrav. Inj. von 3 ccm 0,85 % Na Cl

11 Uhr	38,75
11^{30} »	39,0
12 »	39,6
12^{30} »	39,75
1 »	39,7
1^{30} »	39,6
2 »	39,6
2^{30} »	39,4
3 »	39,3
3^{30} Uhr	39,2
4 »	39,0
4^{30} »	39,1
5 »	39,1
5^{30} »	39,0
6 »	39,1

Versuch 58. Kaninchen 55. 1500 g.

27. I. Intrav. Inj. von 1,5 ccm Rinderserum.

17. II. Intrav. Inj. von 1,5 ccm Rinderserum. Krank. Erholung.

24. II.	1 Uhr	38,8
	2 »	38,8
	3 »	38,6
	4 »	38,9
	5 »	39,0
	6 »	39,0
25. II.	10 Uhr	38,7

10^{45} Uhr intrav. Inj. von 3 ccm 0,85 % Na Cl

11 Uhr	38,5
11^{30} »	38,8
12 »	39,0

12 30 Uhr		39,2
1	›	39,35
1 30	›	39,2
2	›	39,1
2 30	›	39,0
3	›	39,1
3 30	›	38,9
4	›	39,1
4 30	›	38,9
5	›	38,9
5 30	›	38,95
6	›	39,0

Versuch 59. Kaninchen 20.
Vgl. Versuch 29.
8. II. Intrav. (zweite) Inj. von 3 ccm Rinderserum.
Krank. Grofse Mattigkeit, Kot- und Urinabsonderung, später Erholung.
18. II. Gewicht 2625 g.

17. II.	8 Uhr		39,4
	8 30	›	39,4
	9	›	39,5
	9 30	›	39,1
	10	›	38,8
	10 30	›	39,0
	11	›	39,2
	11 30	›	38,95
	12	›	39,1
	12 30	›	39,0
	1	›	39,0
	1 30	›	38,9
	2	›	39,1
	3	›	39,0
	4	›	39,1
	5	›	39,3
	6	›	39,6
	7	›	39,6
18. II.	10	›	39,4
	10 30	›	39,2
	11	›	38,9
	12	›	39,3
	12 30	›	39,0

12 45 Inj. von 13 ccm 0,6 % NaCl-Lösung intravenös

1 Uhr		39,0
1 30	›	39,8
2 Uhr		40,0
2 30	›	40,5
3	›	40,6
3 30	›	40,5
4	›	40,1
4 30	›	40,1
5	›	39,8
6	›	40,2

19. II.	8	›	39,35
	8 30	›	39,4
	9	›	39,4
	9 30	›	39,4
	3	›	39,3
	6	›	39,7

Versuch 60. Kaninchen 18.
Vgl. Versuch 22.
8. II. Intrav. (zweite) Inj. von 2,5 ccm Rinderserum.
18. II. Gewicht 2120 g.

17. II.	8 Uhr		39,25
	8 30	›	39,3
	9	›	39,2
	9 30	›	39,2
	10	›	39,35
	10 30	›	39,2
	11	›	39,5
	11 30	›	39,7
	12	›	39,3
	12 30	›	39,4
	1	›	39,4
	1 30	›	39,55
	2	›	39,6
	3	›	39,3
	4	›	39,5
	5	›	39,7
	6	›	39,7
	7	›	39,65
18. II.	10	›	39,2
	10 30	›	39,1
	11	›	39,2
	12	›	39,4
	12 30	›	39,3

12 45 Uhr intrav. Inj. von 13 ccm 0,6 % NaCl

1 Uhr		39,7
1 30	›	40,6

	2 Uhr	40,5
	3 »	40,2
	3 30 »	40,0
	4 »	39,7
	4 30 »	39,5
	5 »	39,6
19. II.	6 »	39,55
	8 »	39,4
	8 30 »	39,45
	9 »	39,5
	9 30 »	39,5
	3 »	39,4
	6 »	39,2

Versuch 61. Kaninchen 6.

Vgl. Versuch 25.

Gewicht 2750 g.

15. II.	10 Uhr	39,15
	2 »	39,3
	6 »	39,3
16. II.	8 »	39,4
	11 »	39,6

11 15 Uhr intrav. Inj. von 19 ccm 0,6 % Na Cl

	11 30 Uhr	40,5
	12 »	40,4
	12 30 »	40,4
	1 »	40,1
	1 30 »	39,5
	2 »	39,55
	2 30 »	39,5
	3 »	39,4
	3 30 »	39,2
	4 »	39,5
	4 30 »	39,35
	5 30 »	39,3
	6 30 »	39,35
	7 30 »	39,2
17. II.	8 »	39,5
	2 »	39,4
	6 »	39,1

Versuch 62. Kaninchen 9.

Vgl. Versuch 26.

Gewicht 2660 g.

15. II.	10 Uhr	39,4
	2 Uhr	39,2
	6 »	39,7
16. II.	8 »	39,2
	11 »	39,4

11 20 Uhr intrav. Inj. von 18 ccm 0,6 % Na Cl

	11 30 Uhr	39,25
	12 »	39,7
	12 30 »	40,35
	1 »	40,6
	1 30 »	40,2
	2 »	40,1
	2 30 »	40,0
	3 »	40,0
	3 30 »	39,9
	4 »	39,7
	4 30 »	39,6
	5 30 »	39,7
	6 30 »	39,95
	7 30 »	39,9
17. II.	8 »	39,5
	2 »	39,4
	6 »	39,8

Versuch 63. Kaninchen 23.

Vgl. Versuch 21.

8. II.	10 Uhr	39,8
	2 »	39,4
	7 »	39,4
9. II.	8 » morg.	39,8
	8 » abends	39,75
10. II.	10 »	39,4

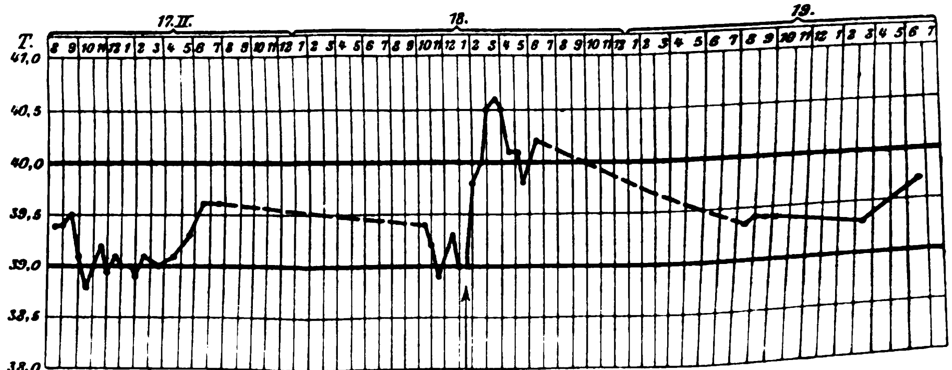
10 30 Uhr intrav. Inj. von 15 ccm 0,75 % Na Cl

	11 Uhr	39,35
	11 30 »	39,5
	12 »	40,05
	1 »	39,5
	2 »	39,3
	3 »	39,3
	4 »	39,7
	5 »	39,5
	6 30 »	39,55

Die folgende Tabelle IV enthält eine Übersicht über die Versuche 57—63.

Tabelle IV.

Versuch Nr.	Tier Nr.	Intravenöse Injektion von NaCl-Lösung			Absolute Menge NaCl in g		Temperatur am Tag der Injektion	
		Prozentgehalt der Lösung	Menge in ccm pro Tier	Menge in ccm pro kg	pro Tier	pro kg	Maximum	Differenz
57	54	0,85	3,0	2,0	0,0255	0,0170	39,75	1,05
58	55	0,85	3,0	2,0	0,0255	0,0170	39,35	0,85
59	20	0,6	13,0	5,0	0,0780	0,0300	40,6	1,7
60	18	0,6	13,0	6,0	0,0780	0,0360	40,6	1,5
61	6	0,6	19,0	7,0	0,1140	0.0420	40,4	1,2
62	9	0,6	18,0	7,0	0,1080	0,0420	40,6	1,4
63	23	0,75	15,0	10,0	0.1125	0,0750	40,05	0,75



Kurve 4. Versuch 59. Kaninchen 20. Anaphylaktisch.

Um unsere intravenösen Versuche an normalen und anaphylaktischen Tieren vergleichen zu können, scheint es uns das richtigste zu sein, die pro Kilogramm Körpergewicht injizierten absoluten Salzmengen der Betrachtung zugrunde zu legen (vgl. Tabelle III und IV). Eine derartige Durchrechnung der Versuchsresultate ergibt, dafs bei normalen Tieren die geringste Fieber erregende Dosis etwa 0,06 g und bei anaphylaktischen 0,03 g beträgt (siehe Kurve 4). Besonders auffallend ist es aber, dafs bei den überempfindlichen Tieren jede die Minimalmenge überschreitende Dosis Fieber hervorrief, während von den normalen Tieren Kaninchen 34, 48 und 50

weit gröfsere Mengen (0,105, 0,108 resp. 0,113 g) ohne deutliche Reaktion vertrugen.

Als das wichtigste Resultat unserer Untersuchungen können wir daher die Feststellung betrachten, dafs anaphylaktische Kaninchen sowohl bei subkutaner wie bei intravenöser Injektion schon auf Kochsalzmengen mit Temperatursteigerungen reagieren, die für normale Tiere wirkungslos sind. Mit anderen Worten, es geht aus unseren Experimenten hervor, dafs Kaninchen auf Grund einer Vorbehandlung mit Rinderserum einen Zustand von Allergie gegenüber subkutan und intravenös injiziertem Kochsalz erwerben können. Dieser Zustand erscheint, wie wir vorher gezeigt haben, gleichzeitig mit der Serumanaphylaxie und gibt sich im Vergleich mit normalen Kaninchen in einer zeitlich (das gilt wenigstens für die subkutanen Infusionen) und quantitativ veränderten Reaktionsfähigkeit der Versuchstiere zu erkennen.

Es scheint uns somit die schon eingangs ausgesprochene Vermutung, dafs die starke Reaktion der kranken Säuglinge auf Salzzufuhr mit allgemeinen Veränderungen des Gesamtorganismus in Zusammenhang stehen könnte, eine Stütze zu finden. Es wäre jedenfalls von grofsem Interesse, nun zu prüfen, ob sich bei den abnorm reagierenden Säuglingen auch klinische Anhaltspunkte für das Bestehen eines anaphylaktischen Zustandes finden lassen (überstandene Infektionen, Nachweis von Kuhmilch resp. Präzipitinen im Blut mittels der biologischen Methoden. Natürlich wollen wir damit nicht in Abrede stellen, dafs daneben auch einer Schädigung des Darmepithels bei oraler Zufuhr des Salzes, über die wir ja keine Erfahrung besitzen, eine Bedeutung zukommt. Aufserdem erklären wir mit unseren Auseinandersetzungen nicht, warum beim normalen Organismus überhaupt ein Salzfieber zustande kommt. Es ist zweifelsohne, dafs dabei ganz andere Momente eine Rolle spielen.

Im Anschlufs an diese Versuche wollen wir kurz erwähnen, dafs wir auch mit Traubenzucker, arteigenem Blutserum im frischen und auf 56° erwärmten Zustand[1]) sowie mit der Ringer-Lockeschen Lösung sowohl bei subkutanen wie bei intravenösen Injektionen Fieber erzeugen konnten. Diese letzteren Versuche scheinen uns wichtig im Hinblick auf die von Meyer und Rietschel ausgesprochene Vermutung, dafs die Fieber erregende Wirkung der Na-Ionen durch Ca-Ionen aufgehoben werden könnte. Wir haben diese Ansicht in unseren Versuchen weder mit der Ringerschen Lösung noch durch Beigabe gröfserer Kalziummengen bestätigen können.

Schliefslich möchten wir nicht versäumen, mitzuteilen, dafs wir, abgesehen von den neuesten, schon mehrfach zitierten Arbeiten (siehe bei Meyer u. Rietschel) sowohl aus der früheren Zeit (Billroth[2]), v. Bergmann[3])), wie aus der späteren (Hildebrandt[4]), Krehl[5])) einige die Frage des Salzfiebers berührende Angaben gefunden haben. Auch die Daten der erstgenannten Arbeiten, lassen sich, obwohl sie damals noch ohne Kenntnis der Asepsis durchgeführt wurden, zum gröfsten Teil verwerten, da bei kritischer Durchsicht der Tabellen und Kurven septisches und nicht bakterielles Fieber leicht zu unterscheiden ist. Aus ihrem Inhalt sei erwähnt, dafs beide Autoren nach intravenöser Injektion grofser Quantitäten reinen destillierten Wassers bei Hunden zuweilen Fieber beobachtet haben. Der Ablauf des Fiebers entspricht vollkommen dem von uns als typisch nach intravenöser Injektion von Kochsalzlösung beschriebenen.

1) Anmerkung. Die Versuche mit arteigenem Serum scheinen uns nicht nur mit Rücksicht auf die Untersuchungen v. Pirquets und Schick über die Serumkrankheit, sondern auch an und für sich ein gröfseres Interesse zu besitzen. Obwohl unsere diesbezüglichen Experimente noch in den ersten Anfängen stecken, konnten wir doch mehrfach konstatieren, dafs auch das ½ Stunde auf 56° erwärmte Serum Fieber erzeugt. Wir dürfen daraus auf jeden Fall den Schlufs ziehen, dafs es sich hier nicht gut um ein Fermentfieber handeln kann.

2) Langenbecks Archiv, 1865, Bd. 6, 372 u. 1872, Bd. 13, 579.

3) St. Petersburg. med. Zeitschr., 1869, Bd. 15, 84, zit. nach Billroth.

4) Virchow Archiv, Bd. 121, 1.

5) Archiv f. exp. Pathol., 1895, Bd. 35, 222.

Nach Hildebrandt reagieren Kaninchen schon auf die subkutane Injektion von 5 ccm destillierten Wassers und 10 ccm einer 0,6 proz. Kochsalzlösung mit Temperatursteigerung.

Ausführlichere Angaben über das nach subkutaner Injektion verschiedener Salzlösungen auftretende Fieber finden sich bei Krehl. Viel interessanter aber war es für uns, nachträglich bei demselben Autor zu lesen, dafs er die von uns ausgesprochene Vermutung über den Einflufs der Anaphylaxie auf die Reaktionsfähigkeit ebenfalls schon in den Kreis seiner Besprechungen gezogen hat, allerdings ohne zu einer endgültigen Vorstellung zu gelangen. Krehl erinnert zunächst daran, dafs der tuberkulöse Organismus auf zahlreiche Stoffe, abgesehen von den Tuberkulinen und anderen spezifisch wirkenden Mitteln, mit Fieber reagiert. Im Laufe seiner Tierexperimente ist er ferner darauf aufmerksam geworden, dafs die vorausgehende Behandlung der Tiere oft schon von Bedeutung für ihre schliefsliche Reaktion ist, auch wenn sie nicht in der Infektion mit lebenden Bakterien besteht. Wir wollen als einziges Beispiel anführen, dafs die subkutane Injektion von 5 ccm Bouillon bei normalen Meerschweinchen nie die Temperatur erhöht, während bei gebrauchten, d. h. mit lebenden oder toten Bakterien vorbehandelten Tieren danach Steigerungen bis 40,5 zu beobachten waren.

Zum Schlufs fassen wir unsere Resultate noch einmal, wie folgt, kurz zusammen.

I. Normale Kaninchen.

1. Durch die subkutane Infusion von nur 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung pro Kilogramm Körpergewicht sind bei normalen Kaninchen fast regelmäfsig fieberhafte Temperatursteigerungen zu erzielen, während bei intravenöser Zufuhr die doppelte Menge dazu nötig ist und überdies die Reaktion unregelmäfsiger auftritt.
2. Bei der intravenöser Injektion unterscheiden sich leicht hypo- und hypertonische Kochsalzlösungen nicht von der physiologischen; sie wirken entsprechend ihrem absoluten Salzgehalt.

II. Überempfindliche Kaninchen.

Anaphylaktische, d. i. mit artfremdem Serum vorbehandelte Kaninchen zeichnen sich von den normalen durch eine viel gröfsere Empfindlichkeit gegenüber der subkutanen und intravenösen Injektion von Kochsalzlösung aus. Sie reagieren in beiden Fällen schon auf die Hälfte der entsprechenden für die normalen Tiere notwendigen Dosis und zeigen nach intravenöser Zufuhr eine gröfsere Regelmäfsigkeit im Einsetzen des Fiebers, nach subkutaner eine zeitlich beschleunigte Reaktion.

Protozöen und Selbstreinigung.

Von

Dr. med. C. S. Stokvis,

Assistent am Hygienisch-Bakteriologischen Institut der Universität zu Amsterdam.

Die Frage der Selbstreinigung des Wassers und nach der Ursache derselben ist eine der wichtigsten der Hygiene. Vom hygienischem Standpunkte aus ist dieselbe doch von sehr groſser Bedeutung.

Wie bekannt, versteht man unter Selbstreinigung die Tatsache, daſs Wasser, welches verunreinigt ist, nach einiger Zeit diese Verunreinigung nicht mehr zeigt. Früher begnügte man sich mit der Tatsache, daſs Flüsse, welche innerhalb einer Stadt verunreinigt waren, einige Kilometer unterhalb derselben wieder ihre Verunreinigung losgeworden waren, und betrachtete als Verunreinigung nur organische Stoffe. Seitdem man aber weiſs, daſs nicht nur die chemische Beschaffenheit des Wassers ein Maſsstab dafür ist, ob das Wasser vom hygienischen Standpunkte aus gebrauchsfähig ist, sondern man auch auf den Bakteriengehalt acht gibt, hat die Frage der Selbstreinigung sich etwas geändert, und versteht man jetzt hauptsächlich darunter, daſs Wasser, stehendes sowohl wie flieſsendes, das einen groſsen Bakteriengehalt hat, nach einiger Zeit eine Verminderung dieses Gehalts zeigt.

Eine ganz gute Übersicht über die verschiedenen Theorieen der Selbstreinigung und über die Literatur gibt die in 1900 er-

schienene Doktorarbeit von weiland Dr. med. M. Hilsum[1]). In Bezug also auf die Literatur und eine ausführliche Auseinandersetzung der Theorien, verweise ich auf jene sehr interessante und wissenschaftliche Arbeit. Doch möge der Vollständigkeit halber hier eine kurze Übersicht der Theorien folgen. Man kann diese verteilen in zwei Gruppen, in eine mechanisch-chemische und eine biologische Theorie.

Zu den mechanisch-chemischen Theorien gehören:

1. Sedimentierung.
2. Licht.
3. Abscheidung toxischer Stoffe.

Die Theorie der Sedimentierung ist diese, dafs das Wasser bei seiner Passage durch eine Stadt stark verdünnt wird und dadurch eine relative Verminderung an Verunreinigung zeigt, und dafs durch die Sedimentierung im Wasser die Bakterien nach dem Boden geführt werden. Diese Theorie wird hauptsächlich vertreten durch Frank[2]) und D. W. Prausnitz[3]).

Die Theorie des Lichtes behauptet, dafs die Verminderung der Bakterien im Wasser dem Einflusse des Lichtes zuzuschreiben ist, welches eine tötende Wirkung auf die Bakterien ausübt. Hauptvertreter dieser Theorie war Büchner[4]).

Bei der dritten Theorie sollten durch die im Wasser befindlichen Bakterien toxische Stoffe gebildet werden, welche hemmend auf die Bakterien wirken sollten. Diese Theorie findet man u. a. bei Hankin[5]).

---

1) Bakteriologisch onderzoek vanun zwembassin in verband mit zelfreinigung. Siehe auch Zentralblatt f. Bakt., Abt. I. Orig.-Bd., S. 661.

2) Frank, Die Veränderungen des Spreewassers innerhalb und unterhalb Berlins in bakteriologischer und chemischer Hinsicht. Zeitschrift für Hygiene, Bd. 3, 1888, S. 355.

3) Der Einflufs der Münchener Kanalisation auf die Isar mit besonderer Berücksichtigung der Frage der Selbstreinigung der Flüsse. Hygienische Tagesfragen. IX, 1890.

4) Über den Einflufs des Lichtes auf Bakterien und über die Selbstreinigung der Flüsse. Archiv für Hygiene, Bd. XVII, 1893, S. 179.

5) L'action bactéricide des eaux de la Jumna et du Gange sur le microbe du cholera. Annales de l'Institut Pasteur, Tome X, 1890, S. 511.

Etwas eingehender werden wir die biologischen Theorien betrachten müssen und finden dann eine Theorie, bei welcher eine Erklärung der Selbstreinigung gesucht wird in der Wirkung der Algen und grünen Pflanzen.

Diese Theorie ist von Löw[1]).

Diese Theorie wird bestritten durch Prof. J. Uffelmann[2]). Bei dieser Bestreitung vermeldet er, dafs er wohl glaubt, dafs Algen und Infusorien, speziell nennt er Englena viridis, was aber kein Infusorium, sondern ein Flagellat ist, Bakterien und organisches Material vernichten können, meint aber nicht, dafs sie eine Ursache der Selbstreinigung der Gewässer sind.

Duclaux ist derselben Meinung.

So sagt er[3]): »Un autre point visé par M. Uffelmann mérite une mention spéciale, c'est l'influence possible des gros infusoires flagellés et des amibes. De ces êtres, les uns englobent des fragments parfois volumineux, des matières organiques encore complexes, les autres sont carnivores, s'alimentent de proies vivantes, et absorbent et détruisent de grandes quantités de bactéries. Mais si l'on veut pour cela leur faire une place à part, il faut faire aussi une place zoologique à part aux brochets dans un vivier rempli de petits poissons«. Und weiter sagt er: »Les gros infusoires sont en outre presque tous des aërobies, qui ne peuvent vivre dans un liquide fermentescible ou putréfiable que lorsque l'oxygène peut pénétrer dans les profondeurs. Aussi restent ils cantonnés à la surface, pour peu que le liquide soit riche en matière organique et les exposent à la concurrence vitale des ferments. Dans une infusion végétale de foin, où leurs germes enkystés sont présents dès l'origine, ils ne se développent pas les premiers, et attendent que les bactéries aient, en pullulant formé à la surface une couche grouillante de vie où les flagellés se promènent en animaux de proie. Ce n'est encore que dans

1) Löw, Zur Frage der Selbstreinigung der Flüsse. Arch. f. Hygiene, XII, 1891, S. 261.

2) Die Selbstreinigung der Flüsse mit besonderer Rücksicht auf Städtereinigung. Berlin. klin. Wochenschrift 1892, S. 423.

3) E. Duclaux, Traité de Microbiologie. Tome 1, p. 586—587.

les eaux très pures qu'on trouve des amcibes à une certaine profondeur«.

Die letzte biologische Theorie ist diejenige, welche Hilsum als Erklärung der Selbstreinigung gegeben hat. Er hat nämlich beobachtet, dafs bei Wasser, welches in Kolben aufgehoben worden ist und welches im Laboratorium einige Zeit gestanden hat, eine Verminderung der Bakterienzahl stattfindet. Die Bakterienzahl vermehrt sich erst einige Zeit, bleibt dann auf dieser Zahl stehen, was Hilsum Gleichgewichtszustand nennt, und fängt dann an sich zu vermindern. Nun hängt dies alles davon ab, ob man das Wasser mit einer Reinkultur beschickt hat oder nicht. So sagt er[1]): »Beschickt man das filtrierte Wasser mit einigen Sorten, dann wird durch den Streit zwischen diesen Sorten die Steigerung weniger schnell vor sich gehen, der Gleichgewichtszustand nicht so hoch sein und der Kampf untereinander die Ursache sein, dafs alle Sorten, ohne dafs eine hervorragt, sich vermindern werden. Je mehr Sorten man nach dem Filtrieren ins Wasser bringt, desto weniger schnell wird die Zunahme sein, desto niedriger der Gleichgewichtszustand, und desto schneller wird die Abnahme folgen«.

Er sieht nun in dem Streit zwischen den verschiedenen Sorten oder zwischen den Individuen derselben Art eine Erklärung der Abnahme der Bakterienzahl. Wie oben gesagt, finden wir mit Ausnahme von Löw nirgendswo als Ursache angegeben, dafs niedere Tiere die Bakterien vernichten können. Nur Uffelmann und Duclaux vermelden dies wohl, messen dieser Vernichtung aber keinen grofsen Wert als Ursache der Selbstreinigung bei.

In einer in 1905 erschienenen Publikation von Dr. Otto Huntemüller[2]) finden wir zum erstenmal angegeben, dafs Protozoen und speziell Flagellaten imstande sind, Bakterien zu vernichten.

1) Hilsum, a. a. O., S. 67—68.

1) Dr. Otto Huntemüller, Vernichtung der Bakterien im Wasser durch Protozöen. Archiv für Hygiene, Bd. 54, S. 89.

Angeregt durch Versuche von *Emmerich* und *Gemünd*, die sahen, daſs typhoide Bazillen im sterilen Leitungswasser am Leben bleiben, dagegen im nicht sterilen zugrunde gehen, und dieses Absterben dem Einflusse der Flagellaten welche im Leitungswasser anwesend waren, zuschreiben, hat er neue Versuche angestellt, um diese vernichtende Wirkung der Flagellaten etwas eingehender zu studieren.

Dazu nahm er sterilisierte Kolben, die mit Leitungswasser halb gefüllt waren. In diesem Wasser waren Flagellaten stets anwesend und wohl *bodo ovatus* und *bodo saltans*, am meisten aber die erste Sorte. Beschickte er nun dieses Wasser mit Bac. typhi und verteilte den Inhalt in Reagensgläser, dann waren nach einiger Zeit die Bazillen aus dem Wasser verschwunden, während in derselben Zeit die Protozoen zugenommen hatten. Auch durch Platten konnten die Bac. typhi nicht mehr nachgewiesen werden. Er benutzte immer 24 Stunden alte Agarkulturen, die bei 37° gehalten waren. In sterilem Wasser blieben die Keime am Leben.

Die Wasserbakterien des Leitungswassers benahmen sich dabei sehr interessant. Dieselben nahmen solange die Flagellaten die hineingebrachten Typhusbazillen zur Nahrung benutzten, in Anzahl zu, aber vom dritten Tage an wieder ab, und waren am vierten Tage vom Anfange des Versuchs ab viel weniger anwesend, da sie nun den stark vermehrten Flagellaten zur Beute wurden.

Schon nach einer Stunde konnte die Verminderung der Typhusbazillen nachgewiesen werden. *Huntemüller* hat auch mikroskopisch die Vernichtung der Bazillen nachgewiesen. Dazu nahm er Wasser, das mit Bac. typhi trübe gemacht war, und welches einige Tage gestanden, und worin die Vernichtung durch die Flagellaten schon angefangen hatte.

Nun machte er ein Präparat mittels eines Deckglases mit Wachsfüſsen und färbte dieses Präparat mit wässeriger Methylenblaulösung. Er konnte dann sehen, wie die Flagellate im Innern ihres Körpers eine Vakuole bildeten, worin die Bac. typhi aufgenommen wurden und auseinanderfielen. Das Temperaturoptimum war 26—30° C.

Diese Huntemüllerschen Versuche habe ich im hiesigen Hygienisch-Bakteriologischen Institut manchmal angestellt und mich jedesmal von der tötenden Wirkung der Protozoen überzeugen können. Den Versuch stellen wir etwas anders als Huntemüller an. Als Protozoen führendes Wasser nahm ich immer dasjenige, welches durch eine Leitung aus dem Flusse »die Vecht« zugeführt wird. Dieses Wasser wird in Amsterdam nur zu Waschwasser und zur Strafsenreinigung benutzt. Zu Trinkwasser dient Wasser, das aus den Dünen stammt.

Ich nahm also zwei Kolben von ± 200 ccm Inhalt und füllte einen mit ± 100 ccm sterilisiertem und den anderen mit ± 100 ccm nicht sterilisiertem Vechtwasser. Nun machte ich beide Kolben mit einer 24 Stunden alten Agar-Agarkultur von Bac. typhi trübe, und zwar derart, dafs der Inhalt beider Kolben fast gleichmäfsig trübe geworden war. Nun wurden die Kolben in Thermostaten bei ± 26° gestellt oder im Sommer bei Zimmertemperatur gehalten, da das Licht die Wirkung der Protozoen unterstützt. Stets war nach ± 4 Tagen der Inhalt des Kolbens mit dem nicht sterilen Wasser klar geworden, während der Inhalt des anderen trübe geblieben war.

Betrachtet man das Wasser nach ± 2 Tagen, so kann man auch mikroskopisch die Vernichtung der Bazillen sehen. Dies ist aber immer etwas schwer. Ich benutzte gewöhnlich kein Deckglas mit Wachsfüfsen, sondern die sog. Glassplittermethode. Auch braucht man das Präparat nicht zu färben. W. Hoffman[1]) hat ebenfalls Versuche über diese Frage angestellt. Er nahm zu seinen Versuchen Aquariumwasser. Er beschickte dieses Wasser mit einer Emulsion von Bac. typhi. Er fand am Anfange seines Versuches 336416 Typhusbazillen pro ccm und 59590 Wasserbakterien. Nach 3×24 Stunden nahm er vier Ösen von verschiedenen Stellen und impfte diese auf Conradi-Drigalski Platten. Er fand nun zwei etwas verdächtig aussehende Kolonien, wovon nur eine typhoid war (Identizität durch Agglutination be-

1) W. Hoffmann, Archiv für Hygiene, Bd. 52, S. 208. Zitiert nach Huntemüller.

stimmt). Nach 5×24 Stunden waren die Typhoidbazillen verschwunden. Die Wasserbakterien hatten auch stark an Anzahl abgenommen.

Durch die oben genannten Versuche angeregt, wollte ich ebenso den Einfluſs der Protozoen auf Bakterien etwas näher betrachten, um nachzugehen, ob sie vielleicht auch Einfluſs auf die Selbstreinigung hätten.

Vorher wollte ich noch einmal die Selbstreinigung sehen. Dazu wurde ein Kolben mit 2 l Vechtwasser gefüllt und nun von Zeit zu Zeit die Bakterienzahl bestimmt.

Kolben mit Vechtwasser 2 l				Kolben mit Vechtwasser 2 l			
10.	XII. 07	120 000	Bakterien	16.	I. 08	208 000	Bakterien
16.	XII. 07	6 300 000	»	20.	I. 08	200 000	»
19.	XII. 07	4 928 000	»	23.	I. 08	224 000	»
2.	I. 08	400 000	»	27.	I. 08	192 000	»
6.	I. 08	540 000	»	8.	II. 08	120 000	»
13.	I. 08	688 000	»	11.	II. 08	64 000	»

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich wird, geht hier eine Selbstreinigung vor sich her. Zuerst kommt eine Vermehrung, die sehr kurz dauert, um allmählich in eine Verminderung überzugehen. Ich wollte nun in einem Gemisch von Bakterien und Protozoen die Protozoen in ungünstige Bedingungen bringen, während die Bakterien dies nicht waren. Konnte man nämlich die Protozoen in ihrer Entwicklung hemmen, ja sogar töten, während dies mit den Bakterien nicht der Fall war, dann muſste, vorausgesetzt daſs die Protozoen bei der Selbstreinigung eine groſse Rolle spielen, diese ausbleiben.

Mein erster Gedanke war, dies zu erreichen, durch die Kolben mit dem Gemisch von Bakterien und Flagellaten bei 37° C zu stellen. Diese Temperatur ist für Protozoen tötend, für manche Bakterien nicht. Ich habe auch solche Versuche angestellt, aber ohne Resultat, da man nicht wissen konnte, ob die Vermehrung der Bakterien nicht vielleicht dadurch kam, daſs gerade bei dieser Temperatur einige Sorten ganz gut wachsen und also eine Vermehrung der Bakterien nicht dem Absterben der Flagellaten zugeschrieben werden müſste.

Ich benutzte immer als Bakterien und Flagellaten führendes Material das Kanalwasser, welches sehr stark damit verunreinigt ist.

Nach oben genanntem Versuch kam ich auf den Gedanken, zu dem Kanalwasser in den Kolben einen Stoff zuzusetzen, der giftig für Protozoen, aber nicht für Bakterien ist, und als solchen wählte ich chinini. Dies wurde in Form von Hydrochloras chinini zu dem Kanalwasser zugesetzt, aber vorher wurde bestimmt, ob es möglicherweise doch keine vernichtende Wirkung auf Bakterien hätte.

1 Kolben mit 500 cbm Vechtwasser, 1 Kolben ohne hydr. chinini, 1 mit 1 % und 1 mit 2 % Hydrochloras chinini.

	Ohne Hychochloras chinini	1 %	2 %	
30. XI. 08	80 000	—	—	Bakterienzahl
1. X. 08	502 000	6 000	2 000	»

Hydrochloras chinini hat also bei einem Gehalt von wenigstens 1 % eine deutlich Bakterien tötende Wirkung.

Jetzt wurden Versuche angestellt mit Chloreton.[1]) Dies ist ein amerikanisches Präparat, welches sehr nahe dem Chloroform verwandt ist. Es hat die Formel $C_4\ H_7\ OCL_3$ und übt auf Tiere einen anäthetisierenden Einfluſs aus. Es wurde dem Wasser derart zugesetzt, daſs diesem ein Gehalt von 0,4 ‰ entsprach.

2 Kolben mit 500 cbm Vechtwasser.

	Ohne Chloreton	0,04 ‰ Chloreton	
3. X. 08	203 500 000	—	Bakterienzahl
5. X. 08	155 500 000	2 000 000	»

Bei diesem Gehalt hatte Chloreton also noch eine deutliche Bakterien tötende Wirkung. Da also die Versuche mit diesen beiden Stoffen fehlgegangen waren, wurde nach einem anderen Stoff gesucht. Prof. Saltet gab mir den Rat, es mit Cyankalium, KCN, zu versuchen. Zwar wird angegeben z. B. durch Kobert[2]), daſs es für Pflanzen ebenso giftig ist wie für Tiere

1) Journal of applied Microscopy and Laboratory Methods 1902. S. 2051.
2) Lehrbuch der Intoxikationen. R. Kobert, Bd. 2, S. 842.

und nur einige Spaltpilze davon ausgeschlossen sind, aber aus meinen Versuchen geht hervor, dafs dies für die durch mich untersuchten Bakterien wenigstens nicht zutrifft.

Vorher mufste also bestimmt werden, ob es giftig wäre für Bakterien. Dazu wurde wieder eine Lösung von 0,4 ‰ benutzt.

Es wurden wieder 2 Kolben Kanalwasser genommen, einer davon ist mit KCN beschickt und der andere ohne jeglichen Zusatz gelassen. Der Bakteriengehalt war der folgende:

	Ohne KCN	0,4 ‰ KCN	
11. X. 08	71 000	—	Bakterienzahl
13. X. 08	133 500 000	31 000 000	»
14. X. 08	352 500 000	22 000 000	»
17. X. 08	20 500 000	4 000 000	»
22. X. 08	verflüssigt	2 000 000	»

Also hatte 0,4 ‰ KCN noch Bakterien tötende Wirkung. Es schien mir nun interessant, nachzugehen, in welcher Verdünnung KCN noch entwicklungshemmenden Einflufs auf Bakterien ausübt. Zu diesem Zwecke wurden Versuche mit Bac. coli und Bac. typti angestellt. Von einer 24 Stunden alten Agarkultur wurde eine Emulsion gemacht und mit einer geeichten Öse die Bakterienezahl von 1 ccm derselben bestimmt.

Nun wurde zu einem Röhrchen mit 9 ccm Bouillon 1 ccm, 1/4 0/0 KCN, hinzugesetzt. Dies wurde also zehnfach verdünnt. Das Röhrchen entsprach also einem Gehalt von 1/4 ‰, und nun wurde 1 ccm der Emulsion zugefügt. Das Röhrchen wurde in den Brutschrank bei 37° C gestellt, und während 3 Tage nun durch Plattenverfahren die Bakterienzahl von 1 ccm bestimmt.

Es versteht sich ja von selbst, dafs auch ein Kontrollröhrchen ohne KCN mithineingestellt wurde.

Bac. coli.

Hineingebracht pro ccm 28 000 000.

	Kontrolle	1/4 ‰ KCN	
21. X. 08	186 200 000	13 900 000	pro ccm
22. X. 08	268 000 000	113 880 000	» »
23. X. 08	1 390 000 000	91 700 000	» »

Bac. typhi.

Hineingebracht pro ccm ∞.

	Kontrolle	$^1/_4$ ‰ KCN
21. X. 08	139 000 000	2 800 000 pro ccm
22. X. 08	2 291 680 000	5 600 000 » »
23. X. 08	∞	5 600 000 » »

$^1/_4$ ‰ gab also Entwicklungshemmung mehr für typhi als für Koli. Jetzt wurden auf dieselbe Weise Versuche mit 0,1 ‰ angestellt.

Bac. coli.

Hineingebracht pro ccm 230 000 000.

	Kontrolle	0,1 ‰ KCN
30. X. 08	278 000 000	55 600 000 pro ccm
31. X. 08	291 700 000	72 925 000 » »

Bac. typhi.

Hineingebracht pro ccm ∞.

	Kontrolle	0,1 ‰ KCN
30. X. 08	170 000 000	3 500 000 pro ccm
31. X. 08	> 170 000 000	2 910 000 » »

Also ist bei 0,1 ‰ die Entwicklungshemmung bei coli wiederum weniger stark, bei typhi allerdings noch ziemlich hoch. Coli ist also resistenter gegen KCN als typhi.

Da also der entwicklungshemmende Einfluſs von KCN nicht so groſs war, wurde jetzt zu dem Kanalwasser KCN zugesetzt, um zu sehen, ob die Selbstreinigung ausblieb. Würde in den Kolben mit KCN die Bakterienzahl sich vermehren, auch trotz dieser Entwicklungshemmung, dann wäre dies noch mehr ein Beweis für die richtige Deutung der Ursache.

Kanalwasser.

	Ohne KCN	0,1 ‰ KCN
16. XI. 08	192 000 000	192 000 000
17. XI. 08	347 000 000	255 000 000
19. XI. 08	29 500 000	45 000 000
23. XI. 08	Platten zerbr.	Platten zerbrochen
26. XI. 08	56 500 000	verflüssigt } zeigten aber eine
30. XI. 08	23 500 000	verflüssigt } groſse Vermehrg.

Es gab also eine deutliche Hemmung der Selbstreinigung. Da aber hierbei leicht Versuchsfehler vorgekommen waren, wurden diese Versuche noch einmal gemacht.

Kanalwasser.

	Ohne KCN	0,1‰ KCN	
7. I. 09	850 000 000	300 000 000	Bakterienzahl
8. I. 09	626 250 000	210 000 000	»
11. I. 09	verflüssigt	verflüssigt	»
15. I. 09	180 000 000	375 000 000	»
18. I. 09	5 000 000	∞ 1)	»
21. I. 09	5 000 000	1 125 000 000	»
25. I. 09	2 000 000	1 010 000 000	»
28. I. 09	8 000 000	1 155 000 000	»
2. II. 09	4 000 000	4 050 000 000	»

Der Unterschied bei diesem Versuch ist sehr hervortretend. Während bei dem Kolben ohne KCN die Bakterienzahl von 850000000 auf 4000000 heruntersinkt, steigt er in dem Kolben mit 0,1 ‰ KCN von 300000000 bis über 4000000.

Interessant ist, daſs bei dem letzten Kolben die Steigung der Bakterienzahl nicht gleich anfängt, sondern nur nach einigen Tagen, aber dann auch sehr rasch. Dies wäre dadurch zu erklären, daſs KCN erst seine tötende Wirkung auf die Protozoen ausüben muſs. Daſs die Selbstreinigung ausblieb, müſste also der tötenden Wirkung des KCN auf die Protozoen zugeschrieben werden.

Es waren nun noch einige Kontollversuche nötig, um zu sehen, ob KCN in sterilisiertem Wasser, also nicht Bouillon, aber ohne Flagelleten, keinen begünstigenden Einfluſs auf Bakterien ausübt. Hierzu wurden Versuche mit Bac. coli, und prodigiosus angestellt.

Es wurde dazu eine Emulsion von einer 24 Stunden alten Agar-Agarkultur gemacht. Bestimmt wurde die Bakterienzahl pro ccm. In zwei Kolben wurde sterilisiertes Vechtwasser (also protozoenfrei) gebracht und dazu 1 ccm der Emulsion gegeben.

1) Da jeder Kubikzentimeter nur 1000 fach verdünnt war, war es unmöglich, die Platte zu zählen. Später wurde jeder Kubikzentimeter 10000 fach verdünnt.

Zu einem der zwei Kolben wurde dann auch noch 0,1 ‰ KCN zugesetzt.

Bac. coli.

Hineingebracht 139 000 000 Bakterien.

	Ohne KCN	0,1 ‰ KCN
22. I. 09	925 000 000	625 000 000
25. I. 09	545 000 000	265 000 000
2. II. 09	900 000 000	20 000 000

Also bei Bac. coli keine Vermehrung, vielmehr eine Verminderung der Bakterienzahl nach Zusatz von KCN in sterilem Vechtwasser.

Bac. prodigiosus.

Hineingebracht 834 000 Bakterien.

	Ohne KCN	0,1 ‰ KCN
22. I. 09	900 000 pro ccm	412 000 pro ccm
22. II. 09	1 000 000 » »	750 000 » »
25. II. 09	1 170 000 » »	10 000 » »
1. III. 09	∞ » »	0 » »

Also bei Bac. prodigiosus war sogar eine sehr starke Entwicklungshemmung durch KCN.

Es war jetzt nicht ohne Interesse, den Huntemüllerschen Versuch aufs neue zu machen, aber mit Zusatz von 0,1 ‰ KCN. Hätte dieses tötende Wirkung auf Flagellate, dann mufste in einem Kolben mit gewöhnlichem Wasser, aber mit Zusatz von KCN, die bevorstehende Tötung der Bakterien ausbleiben.

Es wurden also drei Kolben mit 100 ccm Vechtwasser gefüllt und in jeden eine Emulsion einer 24 Stunden alten Agar-Agarkultur gebracht.

Kolben A enthielt 100 ccm Vechtwasser + Bac. typhi.
» B » 100 » » + » » + 0,1 ‰ KCN
» C » 100 » sterilisiertes Vechtwasser + Bac. typhi.

Nach einiger Zeit war der Inhalt von Kolben A klar geworden. B und C waren trübe geblieben. Also in B keine Vernichtung der Bakterien durch Protozoen. Dieser Versuch ist noch zweimal gemacht worden, einmal mit typhi und einmal mit coli, jedesmal mit prositivem Resultat.

Es war also deutlich geworden, daſs durch Zusatz von KCN die Selbstreinigung ausblieb und daſs dies wahrscheinlich der tötenden Wirkung dieser Stoffe Protozoen gegenüber zugeschrieben werden muſste. Noch deutlicher würde dies sein, wenn man diese Wirkung demonstrieren könnte.

Dazu muſste eine Protozoenkultur angelegt werden oder wenigstens im Wasser die Protozoen reichlich vermehrt werden.

Nach manchen miſslungenen Versuchen habe ich eine Methode benutzt, die mir ausgezeichnete Resultate gegeben hat. Diese Methode zur Anreicherung von Protozoen im Wasser, angegeben von Dr. Razetto[1]), ist folgende: 40 g Kropfsalat werden von ihren Stielen und anderen harten Bestandteilen befreit, fein geschnitten und mit einem Liter gewöhnlichen Wassers so lange gekocht, bis die Blätter auf dem Boden liegen bleiben. Nun wird die Flüssigkeit vorsichtig dekantiert oder durch ein Flanelltuch filtriert und dieses Filtrat zu 100 ccm in sterilisierten Kolben von 200 ccm Inhalt verteilt. Diese Kolben werden jetzt während 20 Minuten im Papinschen Topf bei geöffnetem Ventil sterilisiert. Jetzt wird zu jedem Kolben 100 ccm des anzureichernden Wassers zugesetzt. Man stellt die Kolben bei 24° C ins Licht. Fertigt man nach vier Tagen ein Präparat von der Oberfläche an, so kann man unzählige Flagellaten sehen. Ich habe, wie gesagt, diese Methode benutzt und sehr gute Resultate damit bekommen. Ich fertigte ein Präparat mittels eines Glassplitters an. Auf ein Objektglas wurde ein Glassplitter (zerbrochenes Deckglas) gelegt. Hierneben kam ein Tropfen des zu untersuchenden Wassers, und darauf das Ganze ein Deckglas. Ich betrachtete dieses Präparat mit einem Zeiſsschen apochromatischen Objektiv, 3 mM und Kompensationsokular Nr. 6, also bei einer lineare Vergröſserung $\frac{250}{3} \times 6 = 500$.

---

1) Dr. Razetto (Lima, Peru). Über die hygienische Bedeutung der Protozoen im Wasser. Bericht über [illegible]en XIV. internationalen Kongreſs für Hygiene und Demographie. Berlin, 2[illegible]29. Sept. 1907. Bd. 4, S. 549. Siehe auch Hygienische Rundschau 1908, N[illegible] 17, S. 1020.

Am meisten sah ich auch Bodinae. Nun wurde also ein Präparat gemacht, aber neben dem Tropfen, Flagellaten enthaltenden Wassers ein Tropfen einer 0,2 ‰ KCN-Lösung gebracht; dadurch wurde der erste Tropfen zweifach verdünnt und hatte also einen Gehalt von 0,1 ‰ KCN. Betrachtete man nun das Präparat, so sah man im Gegensatz mit einem Kontrollpräparat, dafs die Flagellaten wie völlig gelähmt waren, ganz stillagen und zusammengeschrumpft waren. Die Verdünnungen der KCN, um zu 0,2 ‰ zu geraten, wurden mit Vechtwasser gemacht. Also wurde immer mit homogenen Flüssigkeiten gearbeitet. Aus dem Vorhergehenden konkludiere ich also:

Durch Zusatz von KCN zu einem Bakterien und Flagellaten haltenden Wasser, derart, dafs diesem *Wasser ein* Gehalt von 0,1 ‰ KCN entspricht, wird die *Selbstreinigung* oder Vernichtung der Bakterien *verhindert.* Daneben sieht man, dafs bei diesem Gehalt an KCN die Flagellaten absterben, die Bakterien nicht. Dieses Ausbleiben der Selbstreinigung mufs also dem Absterben der Flagellaten zugeschrieben werden. Also spielen bei der Selbstreinigung Protozoen und speziell Flagellaten eine grofse Rolle.

Die Haarindustrie in Palermo.

Hygienische Studie

von

Dr. Eduard Carapelle.

(Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität zu Palermo.
Direktor: Prof. L. Manfredi.)

Die grofsen Industrien, die sofort die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich lenken, sind Gegenstand vollständiger Untersuchungen gewesen, durch die man nun mehr ihnen gegenüber in Anerkennung ihrer Schäden und Empfehlung angemessener Vorkehrungen vollkommen einig ist. Die, welche noch entgehen, jedem sozialen und hygienischen Gesetz trotzen, sind die überall in den bewohnten Zentren zerstreuten kleinen Industrien, die dennoch wichtige Einnahmequellen für die Gemeinden bilden und durch die anstrengende, sitzende, vielleicht ungesunde Arbeit, vor allem durch die Räume, in denen sie sich abspielen, den höchsten Beitrag zur Pathologie der Arbeit liefern. Unter diesen ist die Haarindustrie aufzuführen, wie sie in Palermo betrieben wird.

Diese Industrie besteht sozusagen noch im Urzustand, denn weder die Maschine noch die Hygiene haben es auf sich genommen, hier wirksam einzugreifen und sie nach weniger barbarischen Kriterien zu disziplinieren.

Der Haarhandel wird vorwiegend in Süditalien betrieben, und Palermo bildet dabei ein wichtiges Zentrum, wo, ich möchte sagen, die Produktion aus fast sämtlichen Gegenden Italiens

zusammenströmt. Am häufigsten wird das Haar im Rohzustande *nach* Palermo geschickt, wie es von den Privatpersonen gesammelt wird, zuweilen erfolgt die Sendung auch erst, nachdem es eine erste Bearbeitung erfahren hat. In Palermo wird es dann definitiv konfektioniert und nach dem Auslande verschickt.

Durch ihre lange Übung sind die Händler in der Lage, mit *einer* gewissen Sicherheit die Herkunft der Haare unterscheiden zu können, nach der sie verschieden bewertet werden, so z. B. die Haare aus der Gegend von Neapel von denen aus Norditalien, Kalabrien und aus dem Innern Siziliens. Als Anhaltspunkte dienen bis zu einem gewissen Punkt der besondere, stets widerliche Geruch, den eine solche Ware ausströmt, der gröſsere oder geringere Fettgehalt, die gröſsere oder geringere Länge oder *Zerstückelung*, Glanz usw. Es ergibt sich daraus ein Preis, *welcher im* Durchschnitt von 18 bis 20 Lire pro kg schwankt. *Da sodann* die Bearbeitungskosten teuer sind, erlangen die entwirrten und der Länge nach geordneten Haare bereits einen enormen Preis, welcher von 40 auf 50 bis 60 Lire pro kg kommt. Von diesen Bearbeitungen 2. Ordnung gehen sie dann in die 1. Ordnung über, wo sie gewaschen, gereinigt, dem Maſs nach geordnet werden und durch den Abfall und die Arbeitskosten einen Preis von 80, 100, 150 Lire pro kg erreichen. Selbstverständlich sind diese Preise Schwankungen unterworfen, die von Angebot und Nachfrage, der Länge der Haare, welche von einem Minimum von 25 cm zu einem Maximum von 60 bis 80 cm (sog. Spitzen) geht, und sogar von der Farbe abhängig sind, da z. B. weiſses Haar, weil seltener, geschätzter ist. Zu dieser Arbeit werden fast ausschlieſslich Mädchen im zarten Alter von *7 bis 8* Jahren aufwärts verwendet.

In den Industrien 2. Ordnung arbeitet die Arbeiterin zumeist *auf Akkord;* sie erhält einen Lohn von 0,20 bis 0,25 Lire für *je 200 g* entwirrter Haare («manata») und verdient bei einer Arbeit *von* 6 oder 7 Uhr morgens bis 5 oder 6 Uhr abends einen Tagelohn von 1 bis 1,25 Lire. Der Wunsch, möglichst viel zu verdienen, treibt das Mädchen, seinen Platz nur in der Frühstücksstunde zu verlassen.

In der Industrie 1. Ordnung hingegen empfängt die Arbeiterin einen Tagelohn je nach ihrer Geschicklichkeit und Tüchtigkeit; auch hier ist ein billiges Einvernehmen zwischen Arbeiterin und Besitzer nicht ausgeschlossen, wonach einer gröfseren und sorgfältigen Produktion eine entsprechende Lohnerhöhung bewilligt wird.

In diesem Fall ist demnach das Streben nach fieberhafter unaufhörlicher Arbeit bedeutend geringer und die Arbeiterinnen ruhen oft aus, unterhalten sich untereinander, machen sich Bewegung, zerstreuen sich, soweit es der Aufseher des Saales erlaubt, der häufig der Eigentümer der Manufaktur selbst ist. Die Industrie erfordert, wenn sie auch an und für sich höchst lohnend ist, doch die Anlage starker Kapitalien, die in den Industrien 1. Ordnung 100000—500000 Lire und mehr erreichen und 10000—60000 Lire in denjenigen 2. Ordnung. Doch hat sie eine Eigentümlichkeit, die darin besteht, dafs die Ware sofort verkäuflich ist und demnach das Kapital leicht zirkuliert. Infolgedessen steht sie, da keine absolute Immobilisierung starker Summen notwendig ist, anstatt das Privileg weniger zu bilden, namentlich was die erste Bearbeitung angeht, in den Kräften aller, da sich mit wenigen hundert Lire leicht von den laut schreiend umherziehenden Haarkäufern das Rohmaterial aufkaufen läfst, welches, entsprechend entwirrt und gekämmt, sofort an die Manufakturen 1. Ordnung verkauft wird. Auf diese Weise legt jede kleine aus 3—4 Individuen bestehende Familie, anstatt den Arbeiterstand zu erwählen, das Geld an, das sie zusammenbringen kann, und sichert sich so eine stärkere Quelle des Verdienstes. Daraus folgt, dafs die erste Bearbeitung, welche auch die gefährlichste ist, auch stark in Privatfamilien verbreitet ist, welche jeder Beaufsichtigung entgehen. Noch ein weiterer Grund für die Verbreitung der Industrie ist darin zu suchen, dafs viele Personen Hausarbeit darin annehmen. Auf diese Weise geschieht es, dafs dieses infizierte, ekelhafte und geradezu abscheuerregende Material zirkuliert und sogar in die Privatwohnungen eindringt, wo es häufig an Luft, Licht und Reinlichkeit fehlt.

Die Haarindustrie ist demnach durch den Hygienisten unter *einem* doppelten Gesichtspunkt zu betrachten:

1. inbezug auf die Räumlichkeiten, was Agglomeration der Arbeiterinnen, Beleuchtung, Ventilation angeht.
2. inbezug auf die Gefahren, die sie an und für sich für die Arbeiterinnen selbst mit sich bringen kann.

Zum besseren Verständnis und zur besseren Würdigung der Ergebnisse meiner Untersuchungen, ist die Kenntnis von Nutzen, wie sich die Konfektion der Haare in ihren verschiedenen Etappen abspielt, welche, um im Handel gut bewertet zu werden, geruchlos, trocken, glänzend, gut entfettet, sämtlich von der nämlichen Länge, von der nämlichen Farbe, nicht gebrochen *und mit* sämtlichen Spitzen nach einer Seite und den Wurzeln *nach der* anderen gewendet sein müssen.

Es ist Gewohnheit der Dienstmädchen und armen Frauen, die beim Kämmen ausgehenden Haare zu sammeln. Diese Gewohnheit ist die Regel in Süditalien, wo auch wohlhabende Familien darauf spekulieren und einen Nutzen von jährlich 10 bis 20 Lire daraus ziehen. Die während des Kämmens ausgehenden Haare bleiben im Kamm hängen und werden daraus auf leichte allen bekannte Weise entfernt, wodurch ein kleiner Knäuel oder besser ein rundliches kompliziertes Gewirr von mehr oder weniger fettigen, häufig Schuppen enthaltenden Haaren erhalten wird. Diese Knäuel werden aufbewahrt, bis sie, nach Erreichung eines gewissen Gewichtes, zum Preis von 8 bis 9 Lire das Kilogramm (zuweilen, wenn die Ware gut ist, auch zum Preise von 10 bis 12 Lire) an die lautschreiend alle Strafsen der *Stadt durch*ziehenden Käufer verkauft werden. Die so von den verschiedenen Privatpersonen gesammelten und in schmutzige *und schmier*ige Taschentücher gesteckten Haare gelangen an die *ersten Bearb*eitungsstellen, wo sie zu dem oben erwähnten Preis von *18 bis* 20 Lire pro kg verkauft werden. Hier wandern sie von der Wage in eine grofse Kiste, wo eine zuverlässige und erfahrene Arbeiterin mit der groben Abteilung der Haarknäuel *beginnt und* sie nach Farben sondert. Es ist dies eine erste

grobe Unterscheidung, die nach dem Kriterium geschieht, dafs jeder Knäuel, meistens einer Person angehörend, im grofsen und ganzen aus gleichfarbigen Haaren besteht. Die endgültige Sonderung der verschiedenen Farben, weifs, grau, kastanienbraun, schwarz, wird der weiteren Bearbeitung anvertraut.

Aus den Kästchen, in denen die verschiedenen Haarpartien liegen, werden je 200 g abgewogen, welche den für die Entwirrung oder besser Ausweitung des Knäuels bestimmten Mädchen eingehändigt werden, die deshalb als Ausweiterinnen bezeichnet werden. Diese Operation geschieht mit einer ungefähr 10 cm langen und sehr spitzen Stahlnadel, welche zwischen Zeigefinger und Daumen parallel zu der Ebene der Handfläche gehalten wird und auf der die Kuppen des Mittel- und Ringfingers aufliegen; die Ausweitung des Knäuels erfolgt durch eine rasche und leichte Bewegung der Nadelspitze von innen nach aufsen, wobei das Haar zwischen Zeigefinger und Daumen der linken Hand gehalten wird.

Gewöhnlich sind die Haare, besonders die, welche mit der Bahn ankommen, mehr oder weniger zusammengeprefst, und die Handhabung der Nadel erfordert eine gewisse Anstrengung. Als Resultat dieser Operation entsteht auf den Fingerbeeren der rechten Hand mit Ausnahme des kleinen Fingers eine mehr oder weniger tiefe Furche, welche dann zu einer Schwiele führt, die am stärksten am Zeigefinger und Daumen, begrenzter an den beiden anderen Fingern ist. Der Zeigefinger der linken Hand erleidet sodann häufig Stiche auf seiner radialen Seite, Stiche durch die Nadelspitze infolge Zerstreutheit bei der Arbeit.

Die gröfste Sorgfalt mufs auf die Leichtigkeit der Nadelbewegung verwendet werden, da sonst das Haar bricht und dadurch im Preise sinkt. Zur Erleichterung der Operation wird daher reichlich Talkpulver benutzt und solches auf die Schürze gelegt und damit die Haarknäuel gesättigt. Dieser Staub erhebt sich nun während der Arbeitsstunden unaufhörlich in dichten Wolken und färbt alles weifs; sogar die Spinnweben, an denen in diesen schmutzigen elenden Räumen niemals Mangel ist, sind schneeweifs; das Haar der Arbeiterinnen scheint bald wie mit

Asche bestreut, die Hände und das Gesicht sind wie gepudert, die weibliche Kleidung, welche, auch auf den elendesten und einfachsten Ausdruck reduziert, stets reich ist an Falten, Schleifen, Ausbiegungen, Spitzen usw., ist mit diesem Pulver bedeckt, welches sich in nicht indifferenter Menge ansammelt. Um den Übelständen des sich auf ihrem Haare ablagernden Talkstaubes abzuhelfen, bringen die Arbeiterinnen auf ihrem Kopfe einen Bogen Seidenpapier an (s. Fig. 1), welcher jedoch drei Querfinger nach vorn über die Stirn vorspringt. Will das Mädchen bei der Arbeit sorgfältig alle Knoten, die der Haarknäuel zeigt, entwirren, so krümmt es sich gewöhnlich nach vorn, und so findet der sich erhebende Staub nicht einmal den Weg frei, um sich vollständig in dem Raum zu verbreiten, sondern ein Teil desselben prallt unter den Bogen Seidenpapier und bleibt auf den Raum umschrieben, wo sich die Atmung vollzieht, und so wird mit vollen Lungen Talkstaub, untermischt mit Schuppen, Haardetritus und anderen Schweinereien, eingeatmet.

Die dieser Arbeit obliegenden Mädchen sitzen in der Richtung der gröfsten Dimension des Saales mit dem Gesicht stets nach dem Eingang hin gewendet, gewissermafsen in dem Verlangen nach der reinen Aufsenluft. Die Stühle sind in Reihen wie die Stühle einer Kirche aufgestellt, derart, dafs jede Arbeiterin ihre Füfse auf den Stuhl der vor ihr sitzenden Gefährtin stellt und demnach die Wohltat jenes bifschens reiner Luft, das von dem Eingang kommen könnte, noch mehr beschränkt wird. Übrigens besteht auch hierfür eine Einschränkung, insofern in den Stunden, in denen die Sonne in den Arbeitssaal eindringen könnte, allgemein mittels Läden oder Vorhänge ein Teil abgeschlossen wird.

Rechts von jeder Arbeiterin und demnach auf dem Boden seitlich von den Stühlen steht ein Kistchen, welches das ausgeweitete Haar aufnimmt. Der sich unaufhörlich ablagernde Talg macht den Boden ganz glänzend und schlüpfrig, ebenso sind die Hände der Arbeiterinnen beständig wie eingeseift.

In diesen so schmutzigen und stickigen staubigen Räumen wird gegessen, ohne auch nur in der Arbeit auszusetzen, und gut 10 Stunden gelebt.

Die meisten Arbeiterinnen ziehen vor Beginn der Arbeit ihre Kleider aus, um andere, weniger gute, anzulegen, und diese stets unschönen Kleidungsstücke werden durcheinander in einer Ecke des Zimmers aufgehäuft.

Die ausgeweiteten Haare gelangen dann in die Hände der Hechlerinnen, welche die Masse in die Zinken der Kardätsche stecken und sie in der Weise ziehen, dafs schliefslich alle einzelnen Haare der Länge nach nebeneinander zu liegen kommen. Während dieser Operation wird zum gröfseren Geschmeidigmachen der Haare anstatt des Talkes pulverisierte Stärke zugegeben, um den Betrug im Gewicht zu vermindern.

Nach dem Kämmen geht die Haarmasse an andere Arbeiterinnen über, welche ebenfalls mittels Kardätschen die Haare im groben nach ihrer Länge vereinigen.

Dieser mit Stärke untermischte Haarbund wird so an die Manufakturen 1. Ordnung wieder verkauft, wo er eine neue Bearbeitung erfährt, und zwar werden die Haare abermals der Länge nach geordnet, von den kürzesten von 25 cm an bis zu denen von 70—80 cm, mit einem Längenunterschied von 5 zu 5 cm, wobei man darauf bedacht ist, mittels einer Kardätsche mit nur einer Reihe Zinken, die so eng sind, dafs sie die Wurzel des Haares nicht durchlassen, alle Wurzeln nach einer Seite zu wenden. So geordnet werden sie reichlich in Wasser mit Soda und Seife gewaschen, dann in der Sonne getrocknet und von neuem mit der Kardätsche entwirrt, dem Mafs nach gelegt, die Wurzeln endgültig auf eine Seite gebracht und kommen dann zur letzten Hand, wo sie nach Farben unterschieden, fest in kleine Bündel gebunden, die Wurzeln abgeschnitten und sie zum Versand fertiggemacht werden.

Die Sonderung nach Farben, vom Weifs zum Schwarz mit allen ihren Abtönungen geschieht durch 8—12 Jahre alte Mädchen. Der Haarbündel wird in die Kardätsche eingesteckt, und dann nehmen diese Mädchen mit einer Nadel geduldig die Haare von der Farbe, die sie isolieren wollen, eines nach dem anderen und heben sie seitlich empor. Für diese Arbeit werden sie mit einer Bezahlung von 5 Cent. pro Gramm weifsen Haares entschädigt.

In den Manufakturen 1. Ordnung ist der sich erhebende *Staub* sehr gering, und zwar nur um die Tische, an denen die von den Fabriken 2. Ordnung kommenden Haare gehechelt werden; doch sammelt sich auf dem Tisch selbst ein feiner aus Stärke, Haardetritus, Epithelschuppen usw. bestehender Staub an.

Unter Beiseitelassung der kleinen Privatindustrie, welche, wie gesagt, jeder Überwachung entgeht, habe ich meine Beobachtungen an zwei der angesehensten Fabriken 2. Ordnung und einer 1. Ordnung angestellt, wobei ich jedoch nicht Besuche in vielen anderen Fabriken erster und zweiter Ordnung unterliefs, welche höchst wichtige Resultate ergeben haben. Im allgemeinen haben wir bei den Fabriken 2. Ordnung enge, feuchte Räume ohne gute Aborte, in denen der Ammoniakgeruch sich schon *der Nase k*undgibt, ohne Licht, durchaus unzureichend.

Industrien		Zahl der Arbeiterinnen	Länge	Breite	Höhe	Kubikinhalt	Kubikzahl pro Arbeiterin brutto	Kubikzahl pro Arbeiterin netto [1]
1. Ordnung	A	35	14,10	6,3	7,5	666,2	19	18,50
	B	32	7	6,25	4,5	196,8	6,1	5,6
2. Ordnung	C	30	10,35	5,35	5	276,8	9,22	8,72
	D	60	10,9	4,6	4,25	213	3,55	3,05
	E	18	4,75	4,25	3,7	746	4,14	3,64
	F	22	5,4	5,3	4	114,48	5,2	4,7
	G	11	3,4	5,3	2,3	41,4	3,7	3,2

Durch die Prüfung vorstehender Tabelle werden sofort die Säle B, C, D, E, F, G ausgeschieden, da die Kubikzahl Luft für jede Arbeiterin eine recht erbärmliche ist, und bekannt ist, *dafs wenigstens* 20 cbm Luft pro Arbeiterin und Stunde erforderlich *sind, besonders* in den Industrien, wo sich Staub entwickelt;

1) *Im Durchschnitt* wird der von einem normalen Individuum eingenommene *Kubik*raum auf ca. 0,64 cbm berechnet. In Anbetracht, dafs es sich um 17—18jährige abgemagerte Mädchen handelt, in Anbetracht der Stühle, Kisten, Bänke usw., welche sich in dem Lokal befinden, habe ich *es für angezeigt* gehalten, die individuelle Kubikzahl auf 0,5 herabzusetzen und *bin sicher,* dabei keinen grofsen Fehler zu begehen.

außerdem ist zu berücksichtigen, daß die zur Erneuerung der Luft in dem Lokal geeigneten Öffnungen nicht immer derartig sind, daß sie einen wirksamen Austausch zwischen der inneren und äußeren Luft gestatten, entweder weil unzureichend an Zahl, oder weil sie auf enge Gassen mit hohen Häusern gehen.

Doch damit nicht genug; außer in den Sälen A und C haben wir in den übrigen eine Höhe, welche von einem Maximum von 4,5 m auf ein Minimum von 2,30 m herabgeht, und wir wissen, daß in niedrigen Räumen die Luft stets verunreinigter ist als in gleich großen, aber höheren Räumen. Dies erklärt sich dadurch, daß die niedrigen Räume relativ kleinere seitliche Wände und deshalb geringere Ventilationsfläche zeigen und die Temperaturunterschiede der Luft an der Decke und am Boden kleiner sind als in hohen Räumen. Berechnet man den notwendigen Luftwechsel für eine Person in der Stunde unter Berücksichtigung, daß die Arbeiterinnen in der fraglichen Industrie Frauen im Alter 12—35 Jahren sind, so können wir auf Grund der Daten Scharlings im Durchschnitt eine stündliche Kohlensäureausscheidung von 0,0132 cbm berechnen. Bei Verwendung der Formel $x = \frac{c}{l - q}$, wo x der Luftmenge in Kubikmetern entspricht, die in der Stunde in den Raum eingeführt werden muß, c der in einer Stunde von den sich darin aufhaltenden Personen erzeugten Kohlensäuremenge, l der einzuhaltenden Grenze von CO_2, q der CO_2-Menge der freien Luft, bekommen wir:

$$x = \frac{0{,}0132}{l - 0{,}4} = 0{,}022 \text{ oder } 22 \text{ cbm Luft in der Stunde.}$$

Im Anschluß an diese notwendige Luftmenge und die in den oben aufgeführten Sälen pro Arbeiterin verfügbare Kubikzahl können wir berechnen, wie oft in der Stunde die Luft erneuert werden muß, um sie gesund zu halten; und schließlich können wir berechnen, wie lange die Fenster zur Erneuerung der sämtlichen Luft des Raumes offen gehalten werden müssen, indem wir die Quadratfläche des Fensters mit der Geschwindigkeit des Windes multiplizieren.

Wir bekommen so:

	Reine Kubikzahl des Raumes	Reine Kubikzahl pro Arbeiterin	Theoretische Kubikzahl pro Arbeiterin	Wie oft die Luft erneuert werden mufs	Zahl der Fenster	Weite jedes Fensters	Mittlere Geschwindigkeit des Windes in der Minute[1])	In den Raum eingeführte Luft	Zeit für die Erneuerung der Luft
A	648,5	18,5	22	1,2	3	4,5	13,5	182,25	3′, 5″
B	179,2	5,6	22	3,9	1	3,12	10,7	33,43	5′, 3″
C	261,6	8,72	22	2,5	1	3,12	2,75	8,5	30′, 7″
D	183,0	3,05	22	7,2	1	7,5	2,25	16,8	10′, 8″
E	65,5	3,64	22	6,0	1	4,12	10,2	62,4	10′, 5″
F	103,4	4,7	22	4,6	1	3,15	3,5	11,3	9′, 1″
G	35,2	3,2	22	6,8	2	2,4	6.1	27,0	13″

Wie man sieht, wird nicht nur die Kubikzahl Luft in *keinem der* untersuchten Säle erreicht, sondern auch die zum *Luftwechsel* notwendige Zeit ist eine solche, dafs ausgerechnet, *bei einigen* dieser Säle, auch wenn bei dauernd geöffnetem Fenster gearbeitet würde, keine genügende Menge Sauerstoff gesichert werden könnte.

Diese Berechnungen habe ich aufführen wollen, um klar zu zeigen, dafs auch die Räumlichkeiten, welche anscheinend über eine genügende Kubikzahl Luft pro Arbeiterin verfügen, unzulänglich sind, da in ihnen die Luft stockt. Eine weitere Frage erhebt sich dann: Welche Bedeutung besitzen die physikalischen Momente, Temperatur, Feuchtigkeitsgrad und Ventilation unter dem Gesichtspunkt der von Pflügge aufgestellten Theorie? Unter diesem Gesichtspunkt hätte die Agglomeration nur noch einen minimalen Wert, und dies ist der Grund, weshalb ich diese drei Faktoren studierte und sie zu der chemischen Verunreinigung *in Beziehung* brachte. Meine Beobachtungen haben sich auf die *Säle A, C, D* beschränkt: die beiden ersten, weil anscheinend die *besten*, und zwar A unter den Industrien 1. Ordnung *und C unter* denen 2. Ordnung; die dritte, weil die schlechteste nach Mafsgabe der obigen Betrachtungen unter den Industrien

---

1) Die Daten sind aus den mittleren Werten mehrerer Bestimmungen *mit dem Fuefs*schen Anemometer in der Nähe der Öffnung, und zwar an mehreren *Tagen* gewonnen.

2. Ordnung, und auch weil diese Säle wirklich diejenigen waren, welche eine gröſsere Anzahl Arbeiterinnen beschäftigten.

Zur Bestimmung der Kohlensäure bediente ich mich der Pettenkoferschen Methode. Die Feuchtigkeit stellte ich fest mit dem Augustschen Hygrometer mit der Modifikation von Belli, wobei ich für die Berechnungen die bekannte Formel von Regnoult verwendete; die Temperatur wurde auf einem besonderen Thermometer mit $^1/_{10}$ Gradeinteilung abgelesen. Der Druck wurde mit Fortinschem Barometer gelesen. Die Ventilation wurde an verschiedenen Stellen des Saales mit dem Fueſsschen Anemometer, sowohl entsprechend den Öffnungen wie in den abgelegensten Ecken, stets jedoch um die Arbeitstische herum, bestimmt. Die Zahl der Tabelle bringt den Durchschnitt dieser Bestimmungen zum Ausdruck.

Der Feuchtigkeitszustand, die Temperatur, die Geschwindigkeit des Windes wurden in demselben Moment auſserhalb des Saales in einem Abstand von mehreren Metern mit dem oben dargelegten Verfahren gemessen.

Aus den auf Seite 68 und 69 angeführten Daten ergibt sich, daſs der Kubikinhalt wie die Ausgiebigkeit der Ventilation unzureichend sind, woraus sich infolgedessen eine starke Anhäufung von Kohlensäure ergibt. Deshalb ist die Tatsache, daſs auch bei mehrstündigem Aufenthalt in solchen Räumen jene Störungen nicht wahrgenommen werden, welche der verdorbenen Luft zugemessen zu werden pflegen (Cephalaea, Erbrechen, Mattigkeit, Unlust zur Arbeit, Unmöglichkeit, die Aufmerksamkeit längere Zeit wachzuhalten usw.), mit dem in Einklang zu bringen, was Flügge behauptet, daſs tatsächlich die Temperatur und der Feuchtigkeitszustand einen groſsen Einfluſs besitzen müssen, wenn sie nicht überhaupt den Grund für die obenerwähnten Störungen bilden. Bei meinen Untersuchungen sind diese beiden Daten, Temperatur und Feuchtigkeit stets niedrig gefunden worden.

Ich habe die Atmosphäre dieser Räume auch in einer anderen Hinsicht in Betracht gezogen, und zwar unter dem Gesichtspunkt des Staubgehaltes pro Kubikmeter, der wasserlöslichen organischen Stoffe, des Ammoniaks, der Mikroorganismen.

A.[1])

Tag	Stunden	Zahl der Arbeiterinnen	Luft, äußere: Korrigierter Druck	Luft, äußere: Temperatur	Luft, äußere: Geschwindigkeit d. Windes in der Minute	Luft, äußere: Feuchtigkeit Absolut	Luft, äußere: Feuchtigkeit Relativ	Luft, innere: Temperatur	Luft, innere: Geschwindigkeit d. Windes in der Minute	Luft, innere: Feuchtigkeit Absolut	Luft, innere: Feuchtigkeit Relativ	CO_2% bei 0° u. 760	Bemerkungen
17./VIII.	9	25	755,3	27,8	0	15,91	57	26,4	52	14,83	58	0,15	offene Fenster
»	13	»	755,8	27	9	17,49	66	26,8	6	16,35	63	0,25	1/2 Fenster offen
»	17	»	756,0	25,8	10	16,78	68	26,6	4,5	15,59	60	0,30	1 » »
18./VIII	9	31	757,1	26,6	1	11,85	46	25,8	7	12,34	50	0,14	1 1/2 » »
»	13	»	757,1	28,4	5,7	13,43	47	26,6	3	14,54	56	0,17	1/2 » »
»	17	»	756,9	27,4	10,5	14,74	54	26,7	3	14,13	54	0,20	1/2 » »
19./VIII.	9	35	758,0	26,6	1,2	14,88	57	25,6	2	14,98	61	0,18	2 » »
»	13	»	757,8	28,8	2,5	15,65	53	26,5	5	15,82	62	0,2	1 » »
»	17	»	757,9	27,6	6,3	15,33	56	26,6	4	16,29	63	0,18	
20./VIII.	9	»	757,9	28	5	11,31	40	25,8	4	15,03	61	0,16	
»	13	»	757,8	30	6	12,44	39	26,2	2	14,78	58	0,26	geschloss. Fenster
»	17	»	757,8	28,1	7,5	15,37	54	26,8	3,3	15,82	60	0,16	1 1/2 Fenster offen
21./VIII.	9	»	757,5	28,4	1	15,9	55	25,8	4	16,78	68	0,18	2 » »
»	13	»	757,9	28,6	7,6	15,42	53	26,6	3	16,17	62	0,14	alle Fenster offen
»	17	»	757,8	28	6,8	14,73	52	26,6	5	17,01	66	0,18	2 1/2 » »
22./VIII.	9	37	759,0	27,6	6,7	13,24	48	25,8	5	16,78	68	0,14	—
»	13	»	759,3	28,8	5,6	16,74	47	27,2	3	17,37	65	0,20	—
»	17	»	758,0	27,8	6,5	17,36	62	26,8	6,3	17,25	66	0,16	2 Fenster offen

C.[2])

Tag	Stunden	Zahl der Arbeiterinnen	Luft, äußere: Korrigierter Druck	Luft, äußere: Temperatur	Luft, äußere: Geschwindigkeit d. Windes in der Minute	Luft, äußere: Feuchtigkeit Absolut	Luft, äußere: Feuchtigkeit Relativ	Luft, innere: Temperatur	Luft, innere: Geschwindigkeit d. Windes in der Minute	Luft, innere: Feuchtigkeit Absolut	Luft, innere: Feuchtigkeit Relativ	CO_2% bei 0° u. 760	Bemerkungen
24./VIII.	8	25	757,5	26,4	12	15	59	26,6	2	14,74	68	0,2	
»	13	21	757,3	30	24,5	16,76	53	26,8	1	16,52	63	0,2	
»	18	»	757,3	28	19	12,99	46	26,4	0,2	16,75	66	0,2	
25./VIII.	8	30	757,5	26,4	0,3	14,66	57	25	5,5	15,52	66	0,2	
»	13	»	757,3	28	6,5	15,43	55	26,8	3	17,98	69	0,2	
»	18	»	756,7	27,1	6	15,28	57	26,6	3	18,10	70	0,24	
26./VIII.	8	31	756,4	26,8	0,5	15,82	60	25,8	1,5	17,50	71	0,24	
»	13	»	756,4	28,4	5,5	15,9	55	26,8	0	19,10	76	0,3	
»	18	»	756,0	26,2	9,2	16,54	65	26,8	1	19,78	76	0,37	
27./VIII.	8	29	756,7	25,6	2	16,02	66	25,2	5	17,15	72	0,16	
»	13	»	756,6	28,2	7	14,96	52	26,6	1	18,10	70	0,28	
»	18	»	756,5	27,2	7,5	15,92	59	26	1,5	19,41	78	0,22	
28./VIII.	8	23	757,4	27,5	2	14,80	55	25,5	3	17,32	71	0,24	
»	13	»	757,7	29,6	15	14,8	48	26,8	1	17,25	66	0,3	
»	18	»	757,4	29	14	15,71	53	26,6	2	17,01	66	0,28	
29./VIII.	8	26	759,2	26,6	1,5	14,88	57	26,2	4	17,26	68	0,2	geschl. Fenster u. niedergel. Vorh.
»	13	»	759,0	28	10	15,43	55	27,2	0	19,25	72	0,33	
»	18	»	758,3	27	8	15,69	59	26,8	0,5	17,98	69	0,38	

1) Die Fabrik wird um 7 Uhr morgens geöffnet und abends 6 Uhr geschlossen; von 10 bis 10 1/2 wird gefrühstückt.

2) Die Fabrik wird um 7 Uhr morgens geöffnet und schließt abends 6 Uhr; Frühstücksstunde fehlt.

D[1])

Stunden	Zahl der Arbeiterinnen	Luft, äußere: Korrigierter Druck	äußere: Temperatur	äußere: Geschwindigkeit d. Windes in der Minute	äußere: Feuchtigkeit Absolut	äußere: Feuchtigkeit Relativ	innere: Temperatur	innere: Geschwindigkeit d. Windes in der Minute	innere: Feuchtigkeit Absolut	innere: Feuchtigkeit Relativ	CO_2 % bei 0° u. 760	Bemerkungen
8	60	756,0	26,6	0	14,2	55	26	0,2	14,91	60	0,20	
12	50	756,0	28	6	15,79	56	28,4	2	18,12	63	0,26	
16	32	755,8	28,8	6,2	16,01	54	27,8	2,5	18,49	67	0,24	
8	64	756,6	26	4,7	12,87	51	26,8	0,5	16,17	62	0,20	
12	68	756,6	27,6	8,5	13,92	51	28,4	3	16,99	59	0,35	
16	55	756,4	25,8	6	14,69	59	27,8	0	18,49	67	0,29	
8	65	755,3	25,4	1	12,91	53	26,8	3	16,29	63	0,20	
12	60	755,0	27,8	10,5	13,11	47	28,4	1	16,29	59	0,30	
16	»	754,9	27,4	13,5	13,36	49	27,8	1	18,75	67	0,26	
8	60	754,8	26,2	3	14,78	58	25,8	0,5	14,00	57	0,38	
12	61	765,3	28,6	9	14,35	49	27,2	0	15,8	58	0,52	
16	»	755,3	25,9	6,7	13,94	56	26,8	1	16,17	62	0,48	
8	63	758,2	25,6	1	13,45	55	25,8	1,5	13,99	57	0,28	
12	65	758,2	27,8	6,8	14,14	51	27,2	0	15,92	59	0,34	
16	60	758,0	26,8	8	14,01	53	26,8	0,5	16,17	62	0,40	
8	42	756,9	25,8	0	14,52	59	25	4	16,69	72	0,28	
12	»	756,7	27,2	4,5	14,87	55	26	0,8	16,66	67	0,34	
16	»	756,0	26,8	6	15,11	58	25,8	1	16,78	68	0,38	

Die Bestimmung des Staubes habe ich in der Weise vor-
nommen, daſs ich ein bestimmtes Volumen Luft, niemals
niger als 300 l, durch eine genau abgewogene einen
pfen aus Glaswolle enthaltende Röhre aspirierte und das Ge-
ht des Staubes durch die Differenz berechnete, das ich dann
1 cbm umrechnete. Au[…] die mittels Kaliumpermanganat
timmten und in Milligramm[…] aktiven Sauerstoffs ausgedrückten
dierbaren löslichen organ[…]schen Stoffe wurde in destilliertem
sser untersucht, in das bl[…]senweise ein bestimmtes Volumen
t, niemals unter 200 l, e[…]ngeleitet worden war. In diesem
lichen Wasser wurde die […] Untersuchung auf Ammoniak mit
ı Nessler Reagens vorg[…]enommen. Die aëroben Mikro-
anismen wurden nach de[…] Petrischalenmethode gezählt und

1) Die Fabrik öffnet morgens […] 6 Uhr und schlieſst um 5 Uhr abends;
nstückstunde fehlt.

auf das Liter umgerechnet, wobei die durch den Miquelschen Filter geleitete Luftmenge (niemals weniger als 50 l) bekannt war. Auf die Anaëroben wurde mit der von Vincent zu diesem Zweck für Trinkwasser empfohlenen Methode untersucht, die dazu vorzüglich geeignet ist.

Die meisten Kolonien bestanden aus Hyphomyzeten (Mucorineae, Aspergilli und Penicillia) mit Überwiegen der Mucorineae und Aspergilli; reichlich waren auch die Sarcinae in ihren sämtlichen Varietäten und die Proteine. Niemals konnte ich mit den pathogenen identifizierbare Bakterien isolieren, aufser ein einziges Mal, wo ich den Staphylococcus pyogenes aureus fand.

A.

Tag	Stunden	Zahl der Arbeiterinnen	Staub pro cbm[1])	Organische Stoffe pro cbm (akt. Sauerstoff) in mg	NH_3	Mikroorganismen pro Liter Luft	
						Aëroben	Anaëroben
17./*VIII.*	9	25	—	21,5	—	1 977	1
»	13	25	—	28,0	—	5 830	2
»	17	25	—	48,0	—	28 440	1
18./VIII.	9	31	—	41,4	—	728	1
»	13	31	—	49,9	—	1 500	1
»	17	31	—	33,6	—	3 102	0
19./VIII.	9	35	—	22,0	—	582	0
»	13	35	—	32,8	—	330	2
»	17	35	—	45,2	—	7 038	1
20./VIII.	9	35	—	28,1	—	350	0,5
»	13	35	—	40,8	—	500	1
»	17	35	—	51,6	—	1 020	1,2
21./VIII.	9	35	—	36,5	—	634	1
»	13	35	—	53,3	—	1 500	1
»	17	35	—	51,5	—	3 600	1
22./VIII.	9	37	—	29,8	—	897	0,8
»	13	37	—	35,1	—	1 000	0
»	17	37	—	25,0	—	1 010	0,9

1) *Nur durch* Aspiration auf dem Arbeitstisch einiger Arbeiterinnen (15), *und zwar derjenigen*, welche das direkt aus der ersten Bearbeitung in den Fabriken 2. Ordnung kommende Haar hecheln, oder durch Aspiration der Luft zwischen der Arbeiterin und dem Tisch in der Höhe des Kopfes der Arbeiterin habe ich von einem Minimum von 0,002 bis zu einem Maximum *von 0,01 Staub* pro cbm sammeln können.

C.

Tag	Stunden	Zahl der Arbeiterinnen	Staub pro cbm	Organische Stoffe pro cbm (akt. Sauerstoff) in mg	NH_3	Mikroorganismen pro Liter Luft	
						Aëroben	Anaëroben
24./VIII.	8	25	0,153	17,1	spühlen	237	2
»	13	21	0,328	11,2	»	186	6
»	18	21	0,532	44,1	»	250	2
25./VIII.	8	30	0,147	20,0	»	852	0,5
»	13	30	0,132	32,1	»	257	1
»	18	30	0,224	43,2	»	325	1
26./VIII.	8	31	0,115	7,2	»	81	1
»	13	31	0,201	35,3	»	1 107	2
»	18	31	0,133	43,2	»	369	2
27./VIII.	8	29	0,072	15,4	»	52	1
»	13	29	0,190	29,1	»	235	1
»	18	29	0,147	26,3	»	139	3
28./VIII.	8	23	0,029	19,5	»	52	2
»	13	23	0,132	22,1	»	580	4
»	18	23	0,321	34,0	»	1 028	4
29./VIII.	8	26	0,153	8,5	»	150	1
»	13	26	0,192	10,0	»	446	1,5
»	18	26	0,250	21,0	»	237	1
31./VIII.	8	60	0,061	22,8	»	270	1
»	12	50	0,278	12,3	»	630	1
»	16	32	0,191	29,0	»	135	2
1./IX.	8	64	0,233	7,1	»	124	1
»	12	68	0,452	42,8	»	292	0,8
»	16	55	0,372	22,0	»	580	0,7
2./IX.	8	65	0,331	19,1	»	780	2
»	12	60	0,453	22,4	»	1 053	4
»	16	60	0,289	27,2	»	2 790	8
3./IX.	8	60	0,152	16,2	»	850	2
»	12	61	0,252	21,1	»	133	1
»	16	61	0,202	22,1	»	750	1
4./IX.	8	63	0,261	19,2	»	593	1
»	12	65	0,330	32,1	»	1 500	2
»	16	60	0,324	28,9	»	880	1
5./IX.	8	42	0,120	22,6	»	102	0,5
»	12	42	0,194	22,6	»	185	1,5
»	16	42	0,221	23,5	»	657	1

Aus den oben aufgeführten Daten ergibt sich, dafs die Staubmenge in den Industrien 2. Ordnung eine ziemlich erhebliche ist, um so mehr, wenn man bedenkt, dafs einerseits der erwähnte

Staub derjenige ist, welcher sich + sozusagen homogen verteilt in dem Raum findet, da er in der die Arbeiterin umgehenden Atmosphäre viel dichter ist, und dafs er andererseits sehr schwer ist und sich sofort niederschlägt und der sich in dem Raum befindende, der feinste Teil ist und vorwiegend aus Talkpulver mit Stärkekörnern und Haardetritus besteht. Was auffällt, sind die organischen Stoffe, welche ziemlich hohe Werte erreichen. Nach meiner Ansicht sind dieselben als zu jenen besonderen Fettsäuren gehörig zu betrachten, welche aus den Gärungen der organischen Substanzen und aus dem Wassersubstanzen und aus den Haarfetten frei werden (Valeriansäure, Capronsäure, Propriomsäure) und welche sich empirisch an der Wand jenes charakteristischen widerlichen Geruchs abschätzen lassen, den man beim Eintritt in diese Fabriken, auch in die best ventilierten wahrnimmt.

Anwesenheit des Ammonikas sodann ist eine konstante Erscheinung in der Luft der Fabriken 2. Ordnung. Bei derjenigen erster Ordnung (A) lagen allerdings die Aborte aufserhalb auf einer grofsen Torgasse; wenn eine solche Einrichtung mifsbilligt werden kann, da sie im Winter plötzlichen Abkühlungen aussetzt, so hat sie andererseits doch den Vorzug, dadurch eine Ursache der Verunreinigung der Zimmerluft auszuschalten. In den beiden anderen Manufakturen C. und D. wie in allen übrigen 2. Ordnung besteht der Abort in einem Loch in einer Ecke eines Kämmerchens (Küche) ohne Luft, ohne Wasser, ohne irgend welche rationelle Abzugseinrichtung, wodurch sich die Gase der Grube mit Leichtigkeit in den Räumlichkeiten des Laboratoriums auch dank der durch die verdünnte Luft der letzteren ausgeübten Aspiration ausbreiten. In der Manufaktur D befand sich der sogestaltete Abort in den Arbeitssaal selbst, davon getrennt durch einen einfachen ein paar Meter hohen Bretterverschlag. Wenn übrigens die Anaerobenverunreinigung unter demselben Gesichtspunkt zu betrachten ist, wie sie Vincent beim Trinkwasser betrachtet, so zeigt dieselbe uns eben die Alteration der Luft durch organische Fäulnisprodukte an.

Zur besseren Übersichtlichkeit der in den vorausgehenden Tabellen zusammengestellten Daten führe ich in der folgenden Tabelle die geringsten, höchsten und mittleren Werte für jede Arbeitswoche auf:

		Zahl der Arbeiterinnen	Druck	Temperatur	Geschwindigkeit d. Windes in der Minute	CO_2 % bei 0° u. 760 mm	Absolute Feuchtigkeit	Relative Feuchtigkeit	Staub pro Kubikmeter	Akt. Sauerstoff in mg pro Kubikmeter	NH_3	Aëroben pro Liter Luft	Anaëroben pro Liter Luft
A	geringster Wert	25	755,3	25,8	2	0,140	12,34	50	—	21,5	—	330	0
	höchster ›	37	759,3	27,2	7	0,300	16,78	68	—	53,3	—	28440	1,2
	mittlerer ›	28,3	757,0	26,4	6,8	0,183	15,65	61	—	37,4	—	3279	0,91
C	geringster Wert	2	756,0	25	0	0,160	15,52	63	0,029	7,2	Spuren	52	0,5
	höchster ›	31	759,2	27,2	5,5	0,380	19,78	78	0,532	44,1	›	1107	6
	mittlerer ›	26,4	757,3	26,3	1,8	0,202	17,76	69,8	0,191	24,4	›	367,9	2
D	geringster Wert	32	754,8	25	0	0,200	13,99	57	0,061	7,1	›	102	0,5
	höchster ›	68	756,9	28,4	4	0,520	18,75	68	0,453	42,8	›	2790	8
	mittlerer ›	57,5	753,3	26,9	1,25	0,316	16,52	62,7	0,262	22,9	›	685,7	1,75

Die in ihrem mittleren Wert genommenen Resultate erklären sich sehr wohl, wenn man bedenkt, dafs die Kubikzahl Luft für jede Arbeiterin in den Sälen C und D unzureichend ist; was jedoch eine gewisse Überraschung erweckt ist das Finden einer grofsen Menge organischer Substanzen und Mikroorganismen in dem Saal A. Dafs zwischen diesen beiden Faktoren eine Parallele besteht, kann man allenfalls annehmen, obwohl die Ursachen, welche eine Änderung der Werte des einen unabhängig von dem anderen hervorrufen, recht zahlreich sind und z. B im Saal D die Mikroorganismen im Zusammenhang stehen müssen nicht nur mit den organischen Substanzen, sondern auch mit dem Staub, wodurch höhere Werte als in dem Saal D erhalten werden, wenngleich zu beiden der Koeffizient des aktiven Sauerstoffs annähernd gleichbleibt. Und eben in dem Staub ist es, in dem meiner Ansicht nach sich eine Erklärung für die bei der Manufaktur A verzeichnete Erscheinung finden läfst. Der Talkstaub ist schwer und neigt leicht zur Ablagerung, wobei er die an ihm haftenden Mikroorganismen mitniederreifst; er wirkt demnach gewissermafsen als mechanisches Reinigungsmittel. Im Saal A fehlt nicht nur dieser kleine Vorteil, sondern in dem-

selben arbeiten an 2 Tischen unter 7 durchschnittlich ungefähr 15 Arbeiterinnen mit Stärkepulver enthaltendem Haar, welche Substanz das bakterielle Leben und die Fäulniserscheinung in eminenter Weise begünstigt. Dazu nehme man den unsichtbaren Staub, welcher sich von den übrigen 5 Tischen erhebt, an denen das Haar ohne jegliches Pulver zum Geschmeidigmachen gehechelt wird, und man wird sich von der Menge der organischen Stoffe und Mikroorganismen, welche sich in dem Raum finden kann, Rechenschaft geben können.

Ich habe gesagt, dafs sich in den Sälen bald mehr bald weniger Staub findet, und habe auch bemerkt, dafs derselbe von verschiedenartiger Natur ist; suchen wir nun, die chemischen und biologischen Eigenschaften desselben näher zu erforschen. Wer der Darlegung gefolgt ist, die ich eingangs von der Art und Weise der Bearbeitung gegeben habe, gibt sich sofort über die Menge des Staubes, der sich erheben kann, Rechenschaft. Um nichtsdestoweniger eine sichere Vorstellung davon zu geben, führe ich folgende Daten auf, mittlere Werte, die aus verschiedenen Versuchen gewonnen wurden.

		Oberfläche in Quadratmetern	Zahl der Arbeiterinnen	Arbeitsstunden	Staubmenge in Gramm	Gesiebter Staub: Unfühlbar	Gesiebter Staub: Grob
A	Hecheltisch [1]	2,6	8	10	12,7	7,5	5,2
C	Hecheltisch	0,75	3	11	80,8	64,2	16,6
C	Schürze einer Arbeiterin	0,09	1	2	17,1	16,16	0,94
C	In verschiedenen Stellen des Saales aufgestellte Glasschalen	0,132	26	1	1,38	1,2	0,18
D	Hecheltisch	1,26	4	10	1,85	152,4	32,6
D	Schürze einer Arbeiterin	0,09	1	2	47,2	44,8	2,4
D	Glasschalen	0,132	53	1	1,5	1,4	0,1
A	Kehricht	88,83	28	10	329	29	300
C	»	55,37	26	11	3050	2885	165
D	»	50,14	57	11	5833	5633	200

1) Die Reinigung der Tische geschieht trocken, das Kehren im Saal A erfolgt feucht, in den anderen trocken, da von dem Schmutz die Haare noch grob getrennt werden.

Der Staub wurde durch das kleinste Sieb der Knoppschen Reihe durchgesiebt. Der auf dem Sieb zurückbleibende Teil besteht aus mehr oder weniger langen und verschlungenen Haaren, Holzstückchen, Steinchen usw. Der durch die Maschen hindurchgehende Teil besteht bei dem Staub des Saales A und dem Hechelstaub der Säle C und D aus Stärkekörnchen, Haar- und Talkdetriti; bei dem übrigen Staub der Säle C und D (Schürzen und Teller) vorwiegend aus Talk mit Haaren, Haardetriti und ganz wenig Stärkekörnchen.

Der Kehricht besteht aus Papier, Haaren, Bindfäden, Zwirn, Kalk- und Kieselerde, Stärkepulver, Haardetriti usw. im Saal A, in den Sälen C und D zum gröfsten Teil aus Talk und ganzen und gebrochenen Haaren.

Für die chemische und bakteriologische Untersuchung des Staubes wurde die durchgesiebte Portion verwendet, um eine für das Studium geeignete homogene mittlere Zusammensetzung zu erhalten.

		Wasser %	Reaktion	Fett %	Stickstoffhaltige Substanzen %	Asche %	Verlust durch Glühen %	Verlust durch Kalzinieren %	Lösliche Stoffe %	Unlösliche Stoffe %	Lösliche oxydierbare Stoffe in mg aktiven Sauerstoffs %	Unlösliche oxydierbare Stoffe in mg 0%	Unorganische Stoffe	Mikroorganismen pro g Trockensubstanz	
														Aëroben	Anaëroben
A	Hechelabfall .	3,5	neutral	2,05	0,15	58,9	41,4	0,7	8,4	91,6	11,52	1,8	Cl, Fe, Mg, Si, Na, K	5270	5
C	Hechelabfall .	5,1	›	1,9	0,24	57,8	40,0	1,3	10,2	89,8	5,7	1,8		8020	7
	Schürze . . .	1,8	›	0,5	0,19	79,9	19,2	0,9	3,7	96,3	3,4	0,2		1750	2
	Glasplatten .	1,1	›	0,03	0,09	70,2	28,8	0,9	7,7	92,3	3,7	0,2		530	1
D	Hechelabfall .	2,5	›	2,9	0,28	62,7	33,6	0,6	12,8	87,2	6,1	2,0		8873	8
	Schürze . . .	0,8	›	0,8	0,15	85,5	13,3	1,0	2,9	97,1	2,5	0,4		1985	3
	Glasplatten .	1,0	›	0,03	0,1	86,5	12,6	0,9	5,7	94,3	3,1	0,4		672	1
A	Kehricht . .	4,6	›	Spuren	0,19	80,2	19,3	0,5	3,2	96,8	3,2	0,2	do. + Ca	6053	6
C	› . .	2,2	›	›	0,2	91,0	8,2	0,8	5,3	94,7	4,1	0,3		3022	2
D	› . .	3,0	›	›	0,25	89,3	11,0	0,7	5,8	94,2	4,4	0,33		5720	8

Das Wasser wurde durch Trocknen im Ofen bei 100° C bestimmt.

Die Reaktion wurde nach Anfeuchten des Pulvers mit Wasser mittels empfindlicher Lackmuspapierstreifchen geprüft.

Das Fett wurde nach der Methode von Soxleht extrahiert.

Die Stickstoffsubstanzen nach der Methode Kjeldahl.

Die Asche durch Differenz nach vorausgehender Bestimmung des Verlustes durch Glühen und Kalzinieren.

Die unlöslichen Stoffe wurden erhalten durch Suspendieren des Pulvers in destilliertem Wasser, Filtrieren auf gewogenem Filter und Trocknen bei 100° C bis zu konstantem Gewicht; durch die Differenz bekam man auch die löslichen Stoffe. Zu gleicher Zeit wurden in dem Filterrückstand die unlöslichen oxydierbaren organischen Stoffe bestimmt, während in der Flüssigkeit jene löslichen bestimmt wurden.

Auf die unorganischen Bestandteile wurde mit der systematischen Analyse untersucht.

Die Mikroorganismen durch Suspendieren einer gegebenen Quantität Pulver in 500 ccm destilliertem Wasser, ungefähr ½ stündiges Umrühren, darauf Herstellung von Petri-Schalen mit $^1/_{10}$ ccm. Durch leichte Berechnungen wurden die gefundenen Zahlen auf das Gramm Trockensubstanz umgerechnet.

Als Species habe ich nur selten den Staphylokokkus angetroffen; reichlich vorhanden sind, wie bei dem in der Luft suspendierten Staub, die Schimmelpilze und die der Atmosphäre eigenen gewöhnlichen Bakterien.

Der hohe Gehalt an oxydierbaren organischen Stoffen, stickstoffhaltigen Substanzen, Fetten begünstigt noch die Lebenstätigkeit der Keime. Die Anaërobioden zeigen uns an, dafs die Gärungsprozesse der Stärke (des Hauptbestandteiles des Hechelstaubes) ziemlich überwiegend sind.

Und nun kommen wir zu dem anderen Punkt der Arbeit: Welches sind die Schäden für die Nachbarschaft und die Arbeiterinnen? Schäden für die Nachbarschaft sind keine vorhanden, wenn man von dem besonderen widerlichen Geruch absieht, welcher bis zu 2—3 m Entfernung empfunden wird, und dem Staub, welcher sich in die benachbarten Privathäuser verbreitet, stets jedoch auf einem sehr beschränkten Umkreis.

In bezug auf die Arbeiterinnen ist in den Industrien 1. Ordnung die Schwiele an den Fingerbeeren der Daumen und diejenigen an dem radialen Rand der Zeigefinger zu erwähnen, verursacht durch die Anstrengung, die diese Finger machen müssen, um die Haare aus der Kardätsche zu reifsen; in den Industrien 2. Ordnung die Nadelstiche am linken Zeigefinger auf seiner radialen Seite und die Schwiele am Daumen, Zeige-, Mittel- und Ringfinger der rechten Hand, verursacht durch die Art und Weise, wie die Nadel gehalten wird.

Eine weitere Erscheinung, die die Aufmerksamkeit der Hygienisten in Anspruch nimmt, ist die Beschäftigung der kleinen Mädchen mit Sonderung der weifsen Haare von den schwarzen. Aus der Untersuchung der Helligkeit der oben aufgeführten Räume mit dem Raumwinkelmesser von Weber ergeben sich folgende Daten:

$$Aw = 36{,}2;\ Bw = 16{,}4;\ Cw = 18{,}7;\ Dw = 23{,}8;\ Fw = 15{,}1,$$

welche beweisen, dafs die Helligkeit in allen diesen Räumen eine unzulängliche ist; die mühselige, jugendlichen Sehorganen auferlegte Arbeit kann also nur schädlich sein.

Auch läfst sich das vorsorgliche Gesetz über die Beschäftigung von Kindern nicht leicht durchführen, da alle diese Arbeiterinnen eine Masse bilden, die bald zur einen, bald zur anderen Manufaktur wandert und jede Überwachung umgeht, und auch weil die Mütter zur Steigerung ihres Verdienstes ihre Kinder von noch zartem Alter zur Arbeit nötigen und, wenn einmal Inspektionen dazu kommen, jede Mutter die Anwesenheit der Tochter entschuldigt und rechtfertigt.

Eine bemerkenswerte Erscheinung ist sodann dem sich in grofser Menge[1]) erhebenden Staub inhärent. Bestünde er nur aus Stärke, so wäre vielleicht bei der angegebenen Quantität keinerlei Gefahr zu befürchten. In den Industrien 2. Ordnung aber ist es der Talkstaub mit Haardetriti, der am reichlichsten vorhanden ist.

1) Die in den Gewichtsbestimmungen des Staubes angeführten Werte bleiben hinter der Wirklichkeit zurück, da ich gewahr wurde, dafs die Eigentümer der Fabriken, aus Argwohn über meine Anwesenheit, empfahlen, wenig Talk zu benutzen.

Der Talk ist ein Magnesiumsilikat ($H_2 Mg_3 Si_4 O_{12}$), doch besitzt er nicht jene schädigenden Eigenschaften, die ihm von Albrecht zugeschrieben werden und den meisten der übrigen Siliciumpulver gemein sind. So vielmehr ist er zart, reizt nicht den Rachen, ruft keinen Husten und kein Beklemmungsgefühl usw. hervor. Die Haardetriti anderseits sind ebenfalls zart und lassen sich nicht mit Detriti von steifen Haaren oder Borsten vergleichen, welche in den Bürstenfabriken entstehen. Diese beiden Elemente können demnach, glaube ich — im Gegensatz zu dem, was man bei Albrecht und Pieraccini liest — nicht als schädlich für den Organismus betrachtet werden.

Ich habe 175 Arbeiterinnen untersucht und keine so häufigen Affektionen der Atmungsorgane gefunden, daſs man berechtigt wäre, sie für eine Folge der Arbeit zu halten. Ebensowenig zeigten sich die Schleimhäute der Nase und Bindehaut affiziert, mit Ausnahme einiger Fälle von offenbar auſserhalb zugezogenem trockenen Trachom. Und unter den untersuchten Arbeiterinnen befanden sich viele, welche die Profession seit längeren Jahren ausübten. Die habituelle Anämie, die Chlorose, einige Fälle von Tuberkulose usw. lassen sich sicher nicht der Arbeit und den Verhältnissen, unter denen diese ausgeführt wird, zur Last legen. Letztere könnten nur als prädisponierende Ursachen betrachtet werden.

Zur besseren Überzeugung bringe ich folgende Daten:

A.

Fortlauf. Nr.	Alter	Seit wie lang im Beruf tätig	Ausgang der ärztlichen Untersuchung	Fortlauf. Nr.	Alter	Seit wie lang im Beruf tätig	Ausgang der ärztlichen Untersuchung
	Jahre				Jahre		
1	30	20		9	22	13	
2	14	4	Infiltrat. d. recht. Lungenspitze.	10	23	4	
3	21	4		11	18	5	Entwickl. ungenüg.
4	15	4		12	17	3	Chlorose.
5	21	10	Chlorose.	13	20	4	
6	18	9		14	17	3	
7	22	14		15	27	16	Infiltrat. d. recht. Lungenspitze.
8	24	14	Rachitismus.	16	16	4	

Fort-lauf. Nr.	Alter (Jahre)	Seit wie lang im Beruf tätig (Jahre)	Ausgang der ärztlichen Untersuchung	Fort-lauf. Nr.	Alter (Jahre)	Seit wie lang im Beruf tätig (Jahre)	Ausgang der ärztlichen Untersuchung
17	16	4	Entwickl. mangelh.	31	18	8	
18	13	3	Skrofulose	32	19	4	
19	14	1		33	16	4	
20	14	6	Konstitut. mangelh.	34	15	4	
21	15	3		35	15	2	
22	15	3		36	18	9	
23	17	1	Chlorose	37	17	8	Chlorose
24	17	4	Entwickl. mangelh.	38	15	4	
25	15	4	Infilt. d. r. Lungenspitze	39	19	6	
26	14	3		40	18	5	Skrofulose
27	20	4		41	16	2	
28	16	5		42	16	2	
29	15	4		43	20	5	
30	18	9					
C							
1	13	2	Skoliosis dextra Chlorose	11	13	3	
2	22	6		12	10	2	Anämie
3	11	6		13	20	11	Skoliosis dextra
4	13	1	Chlorose	14	21	10	Chlorose
5	14	4	Skoliosis dextra	15	26	18	Skoliosis dextra
6	15	4	do.	16	18	10	do.
7	18	8	do.	17	18	8	do.
8	15	4		18	22	14	do.
9	22	8	do.	19	18	8	do.
10	15	2		20	20	8	do.
D							
1	18	10	Skoliosis dextra	13	17	5	Skoliosis dextra
2	16	10		14	12	1	
3	18	10	Infilt. d. r. Lungenspitze	15	16	2	Skoliosis dextra Chlorose
4	14	2	Skoliosis dextra	16	13	2	Skoliosis dextra
5	20	6		17	14	1	Skoliosis sin.
6	12	3		18	20	10	do.
7	11	5 Mon.		19	20	12	Skoliosis dextra
8	10	do.		20	17	10	do.
9	14	6	Skoliosis sin.	21	14	5	
10	17	4		22	14	4	do.
11	11	3	Skoliosis sin.	23	60	6	do.
12	65	10		24	10	2	

Fort-lauf. Nr.
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11

Fort-lauf. Nr.	Alter (Jahre)	Seit wie lang im Beruf tätig (Jahre)	Ausgang der ärztlichen Untersuchung	Fort-lauf. Nr.	Alter (Jahre)	Seit wie lang im Beruf tätig (Jahre)	Ausgang der ärztlichen Untersuchung
25	15	5	Entwickl. ungenüg.	42	17	10	Skoliosis dextra
26	17	5		43	24	10	do.
27	10	2		44	15	5	
28	16	8	Skoliosis dextra	45	15	6	do.
29	17	6	do.	46	17	7	do.
30	28	20	Skoliosis sin.	47	15	5	
31	40	5	Skoliosis dextra	48	18	10	do.
32	12	2	do.	49	25	3	Entwickl. ungenüg.
33	34	22	do.	50	13	5	
34	22	12		51	11	2	
35	16	9	do.	52	10	1	
36	18	6	do.	53	10	1	Skoliosis dextra
37	17	5	do.	54	10	1	
38	17	9		55	24	16	do.
39	33	20	do.	56	28	20	
40	19	4		57	19	12	
41	13	3		58	18	10	
E							
1	8	1		12	14	2 Mon	Skoliosis sin.
2	30	1	Skoliosis dextra	13	13	6 Mon.	
3	14	4		14	13	3	Skoliosis dextra
4	16	1		15	44	3	
5	14	1		16	10	1	
6	21	10	Skoliosis sin.	17	13	3	
7	14	4	do.	18	23	10	
8	14	1	Skoliosis dextra	19	17	8	do.
9	28	14	do.	20	60	20	
10	44	1		21	13	3	
11	11	6 Mon.					
F							
1	13	3	Skoliosis detxra	12	15	1	
2	12	2		13	14	1	
3	15	1	do.	14	17	3	
4	13	2		15	15	2	
5	17	2		16	14	1	Skoliosis dextra
6	13	1		17	17	4	do.
7	14	1		18	15	1	
8	12	1		19	17	4	
9	13	1		20	14	1	Skoliosis sin.
10	15	2	do.	21	15	1	
11	17	3	Skoliosis sin.				

G

Fort-lauf. Nr.	Alter	Seit wie lang im Beruf tätig	Ausgang der ärztlichen Untersuchung	Fort-lauf. Nr.	Alter	Seit wie lang im Beruf tätig	Ausgang der ärztlichen Untersuchung
	Jahre				Jahre		
1	14	2	Skoliosis dextra	7	19	6	Skoliosis dextra
2	10	1		8	15	3	
3	40	2		9	20	1	do.
4	16	4		10	17	4	
5	17	1	do.	11	14	3	do.
6	17	1	do.	12	17	1	

Bei Durchsicht der vorstehenden Tabelle springt sofort in die Augen, dafs in den Industrien 1. Ordnung kein spezieller von der Arbeit abhängiger pathologischer Zustand vorherrscht. In den Industrien 2. Ordnung jedoch, fällt sofort die grofse Anzahl der skoliotischen Arbeiterinnen auf: unter 132 Arbeiterinnen hatten 66 eine mehr oder weniger ausgeprägte Skoliose, d. h. 50% der Arbeiterinnen.

Bei näherem Zusehen erkennt man, dafs die Skoliose das Resultat einer stets in zartem Alter unter 14 Jahren, wenige Male mit 14 Jahren, in ganz wenigen Fällen in einem höheren Alter begonnenen Arbeit ist.

Diese Skelettdeformität ist in Übereinstimmung mit der ganze Tage lang während der Arbeit beibehaltenen wenig hygienischen Haltung. Um die fehlerhafte Haltung der Arbeiterinnen klarer vor Augen zu führen, gebe ich zwei Photographien (S. 82 u. 83) einer solchen wieder.

Zusammenfassend: Das Studium dieses Kapitels der industriellen Hygiene ist von höchster Bedeutung, wenn man berücksichtigt, dafs der Haarhandel in wirtschaftlicher Hinsicht die Zirkulation starker Kapitalien und die Verwendung grofser Arbeiterkraft erfordert. Mit Unrecht ist sie demnach ohne die Hülfe geblieben, die ihr die Mechanik hätte bringen können zu dem Zweck, sie zu einer leichteren, lohnenderen und weniger schädlicheren zu machen.

Unter dem Gesichtspunkt der Hygiene ist sie zu betrachten:

a) in bezug auf die Räume, in denen sie sich abspielt.

b) in bezug auf den verarbeiteten Stoff.

Was die Räume angeht, so hat die Verlassenheit, in der die praktische Hygiene diese Industrie bis heute gelassen hat, bewirkt, dafs stets alle elementarsten Regeln der Reinlichkeit und des Anstandes vernachlässigt worden sind. Es ist demnach für diese Lokale die Einrichtung von Aspiratoren eine zwingende Notwendigkeit, damit so sofort die entstehende enorme Staubmenge entfernt und der Luftwechsel belebt werden könnte.



Fig. 1.

Der jeder Arbeiterin zuzuwendende Kubikraum mufs wenigstens 15 bis 20 cbm netto betragen. Die Aborte mit zugehörigen Waschvorrichtungen, nach den Vorschriften der modernen Hygiene konstruiert, sollten die gröfste Beachtung erfahren. Als Nebenlokale wären Ankleideräume von Nützen, welche die Anhäufung von Kleidungsstücken in dem Arbeitssaal selbst, wie es gegenwärtig der Fall ist, vermeiden würden.

Was den gehandhabten Stoff angeht, so müfste dieser, bevor er zur Verarbeitung kommt, entsprechend desinfiziert, gewaschen und entfettet werden, da die Natur des fraglichen Materials selbst und die sich entwickelnde grofse Staubmenge die Möglichkeit von Gefahren auf Seiten der Arbeiterinnen nicht ausschliefsen. Diese Gefahren sind unter dem Gesichtspunkt einer möglichen

7on Dr. Eduard Carapelle.

n, an dem pathogene Mikro-
ıſs des Gedankens von der
lbst.

ʒiene ist die ethische Hebung
ə Benutzung von leicht wasch-
en und Schürzen zu einer
obligatorischen gemacht
wird.

Die Arbeitsstunden
sollten in der Regel durch
eine 1 bis 2 stündige Pause
für das Frühstück unter-
brochen werden, unter ab-
solutem Verbot des Essens
in dem Arbeitssaal und
während der Arbeit.
Schlieſslich müſste das
Alter für die Zulassung
geregelt werden, welches
bei den Industrien 2. Ord-
nung über 14 Jahre be-
tragen müſste, und den
kleinen Mädchen dürften
keine anstrengenden Ar-
beiten erlaubt werden.

Das Schauspiel so vie-
ler deformer junger Mäd-
lenken geben muſs, um so
sselben dann zu der groſsen
ən sind.

ə Verpflichtung dem Direktor
n. Ferdinando Lo Cascio
rn Dr. Aversa, welche mir
Entwicklung des Themas er-
danken.

—

Experiment
des

(Aus der bakte
Zürich.

Die Bek
mit der Ver
Prädispositior
wird speziell
hältnisse mit
rechtigung d
müssen aber
gessen werde
tuberkulösen
Forderung.
im Sputum
mischen Des
daſs die M
ihre Zufluch
der Tuberke
Nachteile g
die Sputum
schwerer u
noch leber
Auch eigne
Auskochen
Kochtopf

Experimenteller Beitrag zur chemischen Desinfektion des tuberkelbazillenhaltigen Sputums.

Von

Hans Geilinger,

ehemaligem Assistenten am Institut.

s der bakteriologischen Abteilung des Hygiene-Instituts der Universität Zürich. Abteilungsvorstand: Prof. Dr. W. Silberschmidt.)

Die Bekämpfung jeder Infektionskrankheit hat einzusetzen der Vernichtung des Krankheitserregers. Die Frage der *lisposition* spielt allerdings eine grofse Rolle; in neuerer Zeit. speziell bei der Tuberkulose die Hebung der sozialen Ver-ísse mit der Krankheit in Verbindung gezogen. Die Be-gung dieser Bestrebungen wollen wir nicht bestreiten, n aber verlangen, dafs die direkte Bekämpfung nicht ver- *werde.* Aus diesem Grund ist auch die Desinfektion des ılösen Sputums noch immer eine wichtige und berechtigte ıng. Es ist zur Genüge bekannt, dafs die Tuberkelbazillen *tum* sehr schwer zu vernichten sind. Versuche mit che- Desinfizientien ergaben meist ungünstige Resultate, so- *Mehrzahl* der Autoren zur thermischen Desinfektion lucht nehmen. Den Vorteilen der sicheren Abtötung ›rkelbazillen bei diesem Verfahren stehen aber auch *gegenüber.* Beim Kochen des Sputums lösen sich ımballen infolge Gerinnung des Eiweifses bedeutend ınd können selbst nach 10 Minuten langem Kochen ensfähige Tuberkelbazillen enthalten [Moeller[8])]. ›t sich die übliche grofse Form der Spucknäpfe zum in Töpfen nicht, falls die Spucknäpfe nicht selbst als lienen können. Das Auskochen mufs mindestens

$^1/_4$ Stunde dauern. — Die Dampfdesinfektion erfordert einen kostspieligen Apparat und geschulte Bedienung und ist darum nur im Heilstättenbetrieb verwendbar. Durch das oft vorkommende Springen der Gläser werden beide Verfahren noch bedeutend verteuert. Sogar die Leiter und Ärzte von Heilanstalten [Moeller[9]), Sobota[19]), Thom[22])] konnten sich nicht mit den beiden Desinfektionsmethoden befreunden. — Flügge[6]) und seine Schule Noetel[11]) empfiehlt die Verbrennung des Sputums in verbrennbaren Spucknäpfen. Wenn auch zugegeben werden mufs, dafs die Verbrennung wie die Hitze überhaupt die beste Methode bei der Desinfektion bei der Tuberkulose darstellt, so müssen wir mit den praktischen Verhältnissen rechnen und namentlich berücksichtigen, dafs die Einführung von verbrennbaren Spucknäpfen an manchen Orten, so namentlich in öffentlichen Lokalen, Wirtschaften, Bahnhöfen usw. auf grofse Schwierigkeiten stöfst. — Da sich weder das Kochen noch das Verbrennen des Sputums überall einführen läfst, und die gewöhnlichen Spucknäpfe nicht von heute auf morgen verdrängt werden können, müssen wir mit der chemischen Desinfektion rechnen, und ist es Aufgabe der Hygieniker, diese chemische Desinfektion so zu gestalten, dafs sie möglichst sicher wirkt. Die Verwendung wirksamer Desinfektionsmittel als Inhalt der Spucknäpfe empfiehlt sich übrigens auch in solchen Fällen, in denen später durch Erhitzen oder Verbrennen eine sichere Abtötung erfolgt, da wir niemals wissen, wie oft im einzelnen Falle die Spucknäpfe geleert oder gewechselt werden. — Von vielen Autoren ist in dieser Beziehung ein non possumus ausgesprochen worden. Damit ist die Frage nicht beantwortet.

In der vorliegenden Arbeit haben wir uns zur Aufgabe gestellt, experimentell zu bestimmen, welche von den einfachen Desinfektionsmitteln in einer praktisch anwendbaren Zeit (8 bis 12 Stunden) unter gewöhnlichen Verhältnissen eine einigermafsen sichere Desinfektion bedingen.

Eine ausführliche Literaturangabe über den Gegenstand finden wir in der Arbeit von Bofinger[4]). Wir beschränken uns hier auf die Wiedergabe der neueren grundlegenden Arbeiten.

Eine gröfsere Anzahl von Desinfektionsversuchen mit frischem tuberkulösem Sputum machte Steinitz[20]). Geprüft wurden Jodtrichlorid, Formalin, Salzsäure, salzsaurer Alkohol, Sublimat, Sublimatalkohol. Er setzte zum Sputum ungefähr die 10fache Menge Desinfektionsflüssigkeit, welche er, ohne umzurühren, meistens 1 bis 3 Stunden einwirken liefs. Nach möglichst vollständiger Entfernung des Desinfektionsmittels durch Spülung und Neutralisierung wurden Meerschweinchen mit dem Material intraperitoneal geimpft. Die Resultate seiner Versuche sind im allgemeinen als ungünstig zu bezeichnen. proz. Jodtrichlorid wirkte nicht immer in 3 Stunden, auch proz. Formaldehydlösung liefs innerhalb dieser Zeit im Stich. ie Salzsäure wirkte in einer Stunde in niederer Konzentration ,5%) nur, wenn sie in kochend heifsem Zustande zum Sputum setzt wurde, oder aber bei gewöhnlicher Temperatur in hohen onzentrationen (9 bis 15%) in 1½ Stunden. In Alkohol gelöste 2proz. Salzsäure bewirkte in 2 Fällen Abtötung der Tuberkelzillen nach 3 Stunden. Auffallend günstig verliefen die Verhe mit Sublimat: 5promill. Sublimat war nach 1½ Stunden, romill. Sublimatalkohol nach 3 Stunden wirksam. Steinitz[20]) nmt zum Schlusse, dafs die chemischen Desinfektionsmittel ht zum Ziele führen und das Sputum durch thermische Desktion unschädlich gemacht werden müsse.

Eine umfassende Arbeit wurde dann von Bofinger[4]) puert, welcher eine ganze Reihe von Substanzen in dieser itung prüfte: Sublimat, Karbolsäure, Formalin, solseife, Kresolschwefelsäure (ein Gemisch von Rohol und konzentrierter Schwefelsäure zu gleichen Teilen), rium und Kalium hypochlorosum, Soda, Sano-, essigsaure Tonerde, rohen Holzessig und e in diesem enthaltene Substanzen. Die Versuchsanordwar eine möglichst den natürlichen Verhältnissen entbende. Ein gröfseres Quantum Auswurf wurde ohne Umn mit gleichen Mengen der betreffenden Desinfektionslösung zt und nach Beendigung des Versuchs möglichst vom iziens befreit. Meerschweinchen wurden mit je 1 ccm

subkutan und intraperitoneal geimpft. Von den geprüften Präparaten haben die meisten ungünstige Resultate ergeben. So wurde mit Sublimat in 1 promilliger Lösung erst nach 24 Stunden, nicht aber nach 12 Stunden Abtötung beobachtet. 5 proz. Karbolsäure wirkte erst nach 48 Stunden, von 2 nach 24 Stunden ausgeführten Versuchen war der eine positiv, der andere negativ. 5 proz. Formalinlösung tötete nach 12 Stunden ab. 5 proz. erwärmte Kresolseifenlösung wirkte erst nach 48 Stunden, 10 proz. bei gewöhnlicher Temperatur nach 24 Stunden. Auch die 5 proz. Kresolschwefelsäure brauchte 48 Stunden zur Abtötung und in entsprechender Weise wirkte die 10 proz. Konzentration erst nach 24 Stunden sicher. Liquor Natrii hypochlorosi vernichtete die Tuberkelbazillen nach 24 Stunden, Liquor Kalii hypochlorosi sogar schon nach 6 Stunden. Soda, Sanogen und essigsaure Tonerde waren ganz unwirksam. Der rohe Holzessig verhielt sich ungleich. So trat in einigen Fällen nach 3 Stunden schon Abtötung ein, während andererseits nach 6 Stunden neben den günstigen Resultaten noch fast ebensoviel schlechte zu verzeichnen waren. Versuche mit einzelnen Komponenten dieses ein Gemisch von Körpern darstellenden Präparates fielen schlecht aus. Bofinger schreibt darum der Gesamtheit der in diesem Gemisch vorhandenen Substanzen die teilweise recht gute Wirkung zu. Der Autor weist darauf hin, dafs viel schleimige Flüssigkeit enthaltende Sputa im allgemeinen der Desinfektion länger widerstehen infolge der dadurch bewirkten Verdünnung des Desinfektionsmittels. Auch Bofinger[4]) ist der Ansicht, dafs auf Grund seiner Resultate an Stelle der chemischen Sputumdesinfektion diejenige durch Hitze treten müsse.

Vincent[25]) verwandte Kali- und Natronlauge mit günstigen Resultaten, indem es ihm gelang, mit 5 proz. Kalilauge in 24 Stunden, mit 5 proz. Natronlauge und 10 proz. Kalilauge in 8 Stunden und mit 10 und 20 proz. Natronlauge und 20 proz. Kalilauge sogar in 6 Stunden Abtötung der Tuberkelbazillen zu erreichen. Es sind dies die besten Erfolge, die er mit 19 geprüften Substanzen erhielt.

Schon aus den Versuchen von Vincent[25]) geht hervor, daſs die Verwendung von starken Alkalien dadurch günstig wirkt, daſs das Sputum aufgelöst wird. Diese Frage der Auflösung des Sputums und der dadurch ermöglichten besseren Einwirkung des Desinfektionsmittels haben in neuerer Zeit eine Anzahl Autoren, zuerst Thom[22]) und Roepke[13]), später Sugiyama[21]) und Lissauer[7]), näher verfolgt. Thom[20]) hat ein Kresolpräparat mit Natronlauge vermengt und damit günstige Resultate erhalten. Die Verwendung der Lauge wirkte dadurch orteilhaft, daſs das Sputum verflüssigt wurde. Thom[22]) nimmt rner an, daſs die desinfizierende Kraft des Kresols erhöht erde. Durch Zusatz von Alkalisalzen wurde die Lösung spefisch schwerer gemacht, um ein Untersinken der Sputumballen verhüten. Als Geruchskorrigens diente Lavendelöl. Ein lches Präparat wurde unter dem Namen Ptyophagon in den andel gebracht.

Zu noch besseren Resultaten gelangte Roepke[13]), der die age der Auflösung des Sputums durch Alkali weiter verfolgte. verwendete 1—5 proz. Lysoform, dem er auf je 100 ccm ·5 ccm Kalilauge zusetzte, ebenso 1—3 proz. Karbollysom und 1—2 proz. Sublimat mit je 1 und 2 ccm Kalilauge 100 Teile. Diese Mischungen sollen das Sputum meist on nach 1 bis 4 Stunden verflüssigt und regelmäſsig nach tunden Abtötung der Tuberkelbazillen erreicht haben.

Diesen günstigen Ergebnissen widersprechen die Resultate sauers[7]). Er brachte Thoms[22]) Ptyophagon in 17 proz. zentration in Verwendung. Es gelang ihm in der Versuchsdnung von Thom[22]) und Roepke[13]) nicht, die Tuberkellen im Sputum abzutöten. Auch die Auflösung des Sputums nicht in jedem Falle eine gleichmäſsige. Sugiyama[21]) zu entsprechenden Ergebnissen.

Von den neueren Desinfektionsmitteln sind dem Lysoform, Kombination von Formaldehyd und Seifenlösung, von hiedener Seite Vorzüge nachgerühmt worden. So empfiehlt ›ke[14]) das Präparat für die Wäschedesinfektion bei Tuber- e wegen seiner Ungiftigkeit, seines angenehmen Geruches

›drigen Preises. Nagelschmidt[10]) vergleicht das Prä- ›it Karbolsäure und Lysol und hebt ebenfalls die Un- t des Lysoforms bei sonst gleichen Vorzügen gegenüber len älteren Desinfektionsmitteln hervor. Nach Schneider[16]) ı wird das Lysoform von den Kresolseifen an Desinfek- ft übertroffen. Diese nehme jedoch bei mäſsig erhöhter ıtur ganz bedeutend zu.

r die interessanten Eigenschaften des Antiformins, emisch von Alkalihypochlorit und Alkalihydrat, berichtet ıuth[24]). 15—20 proz. Antiforminlösungen lösen dicke ›allen zu einer fast vollkommen homogenen, flüssigen uf, ohne die Tuberkelbazillen zu töten. Auf frische ›se Sputa wurde eine 20 proz. Antiforminlösung bis zu len einwirken gelassen; die mit diesem Material ge- Meerschweinchen wurden sämtlich tuberkulös. Erst in Lösung aufgeschwemmte Tuberkelbazillen wurden, wie ›ersuch ergab, abgetötet. Uhlenhuth[24]) und seine ›r empfehlen daher das Antiformin direkt zur Rein- von Tuberkelbazillen aus phthisischem Sputum.

ı unserer neuesten Desinfektionsmittel ist das Mor- Es ist eine Kaliharzseifenlösung mit 11,92% Form- halt. Töpfer[23]) stellte vergleichende Desinfektionsver- ischen Morbicid einerseits, Formalin und Lysoform ›s an Typhusbazillen und Staphylokokken an mit dem lafs Formalin und Morbicid die doppelte bis dreifache e Kraft wie Lysoform hatten. Trotzdem die Morbicid- lie gleiche desinfizierende Wirkung ausübten wie das war ihre Giftigkeit und Ätzwirkung bedeutend geringer. eruch sei schwach und angenehm. Töpfer[23]) machte Versuche mit Wäsche, die mit tuberkulösem Sputum . Nach 6—12 stündiger Einwirkung der 1 und 2 proz. vurden die kleinen Leinenstückchen Meerschweinchen laut gebracht. Es stellte sich heraus, dafs 2 proz. ı 8 Stunden, 1 proz. in 12 Stunden desinfiziert hatten. r[17]) verglich das Morbicid mit einer Reihe von

formaldehyd| höhere Wirk
Überblic
ratur befind
Autoren mit
zentration u
sultate erhalt
dafs 2 promil
tötete, währe
erzielte. Ab
Diese Unters
sachen. Die
einerseits vo
infizierender
schwerer an
Desinfiziens.
je nachdem
ruhig stehen
Prüfung ein
sind, sind ab
sichtigen, da
die chemisch
sultat in be
des Tierversu
darauf zu ac
möglichst gr
injizierten Sp
die Lebensda

Bei der V
mittel sind f

1. Inte
bazill
über

formaldehydhaltigen Präparaten und konstatierte die durchweg höhere Wirkung des ersteren.

Überblicken wir die hier mitgeteilten und die in der Literatur befindlichen Angaben, so fällt auf, dafs die einzelnen Autoren mit dem gleichen Desinfektionsmittel in gleicher Konzentration und nach gleicher Einwirkungszeit verschiedene Resultate erhalten haben. So berichten z. B. Schill und Fischer[15]) dafs 2 promill. Sublimat in 24 Stunden Tuberkelbazillen nicht abtötete, während Steinitz[20]) schon nach $3\frac{1}{2}$ Stunden Abtötung erzielte. Ähnliche Widersprüche liefsen sich viele anführen. Diese Unterschiede in den Resultaten haben verschiedene Ursachen. Die Wirkung des Desinfektionsmittels ist abhängig einerseits von dem Verhältnis zwischen Sputummenge und desinfizierender Lösung — dicke Sputa in wenig Flüssigkeit werden schwerer angegriffen als kleine Flöckchen in grofsen Mengen Desinfiziens. Ferner ist ein grofser Unterschied in der Wirkung, nachdem ein Umrühren stattfindet oder das Sputum ganz ruhig stehen bleibt. Diese einzelnen Momente, welche bei der Prüfung eines jeden Desinfektionsverfahrens von Wichtigkeit sind, sind aber besonders bei der Sputumdesinfektion zu berücksichtigen, da die physikalischen Eigenschaften des Sputums und die chemischen Umsetzungen des Desinfektionsmittels das Resultat in bedeutendem Mafse beeinflussen. Bei der Vornahme des Tierversuches ist behufs Erzielung einheitlicher Resultate darauf zu achten, dafs das Desinfektionsmittel vor der Impfung möglichst gründlich entfernt werde, ferner ist die Menge des infizierten Sputums von Bedeutung und ganz besonders auch die Lebensdauer der Versuchstiere.

Eigene Versuche.

Bei der Wahl der in Frage kommenden Sputumdesinfektionsmittel sind folgende Eigenschaften zu berücksichtigen:

1. Intensive bakterizide Wirkung. Der Tuberkelbazillus ist bekanntlich chemischen Substanzen gegenüber widerstandsfähiger als die meisten anderen Mikro-

organismen. Diese erhöhte Widerstandsfähigkeit ist zum Teil bedingt durch die fettartigen Substanzen des Bazillen-eibes, beim Sputum ferner durch Muzin und die anderen lie Eindringung der chemischen Substanzen erschweren-len Stoffe.

Ceine zu grofse Giftigkeit. Diese Forderung ist amentlich zu berücksichtigen bei den Zimmerspuck-äpfen wegen der Möglichkeit, dafs der Inhalt von Kin-ern genossen werde. Daher sind ganz geruchlose und ırblose Lösungen, wie z. B. Sublimat, ungeeignet; wenn urch Zusatz gewisser Farbstoffe oder durch gewissen eruch, wie beim Phenol, die Flüssigkeit gekennzeichnet t, so ist diese Gefahr schon etwas geringer.

:ein zu starker Geruch.

eine zu rasche Zersetzung des Desinfektions-ittels, damit die Wirkung tagelang andauert.

as eckelhafte Aussehen des Sputums soll ver-ckt werden.

uflockerung des Sputums, sodafs die Spucknäpfe cht gereinigt werden können.

ucknäpfe, Kleider, Wäsche usw. sollen nicht be-ıädigt werden.

eine Feuergefährlichkeit.

e derer Preis.

esinfektionsmittel dienten Kali- und Natronlauge, , Asterol, Wasserstoffsuperoxyd, Antifor-maldehyd, Lysoform, Rohlysoform, Mor-hnisch, Phenol, Kresolseife und Lysol. Um, eiter oben angeführt wurde, die auflösende Wirkung tigen, wurde eine Anzahl Kombinationen mit ösenden Mitteln, vor allem mit Alkalien, versucht. Verhältnissen in der Praxis nach Möglichkeit zu ent-welche neben der Abtötung auch eine Auflösung oder ıg des unappetitlichen Sputums wünschenswert machen, erner Versuche mit verschiedenen Farbstofflösungen

wie Lackmus, Malachitgrün, Kristallviolett angeschlossen. Eine Züricher Firma liefert unter dem Namen «Wolo» Präparate, welche verschiedene wohlriechende und desinfizierende Mittel in leicht zu emulgierender Form darstellen. Auch mit diesen allerdings etwas teueren Präparaten wurden einige Versuche angestellt. Als weiterer Zusatz wurde Glyzerin versucht, welches auf Grund der Untersuchungen von Bartel und Neumann[3]) eine Erhöhung der bakteriziden Wirkung anderer chemischer Desinfizienzien gegenüber dem Tuberkelbazillus bewirken soll. In einer Anzahl weiterer Versuche verfolgten wir den Zweck, durch Zusatz fettlösender Substanzen die wachsartigen Bestandteile der Tuberkelbazillen zu lösen und dadurch die Abtötung zu begünstigen. In dieser letzten Beziehung wurden Versuche mit einer Lösung von Kaliseife in Terpentinöl angestellt. Diese Lösung stellt mit Wasser vermischt eine undurchsichtige, weifse Emulsion dar und bedingt somit eine Verdeckung des Sputums, wirkt aber gleichzeitig als Geruchskorrigens. Bei diesen Terpentiversuchen mufs die Verdünnung eine starke, die Emulsion eine möglichst vollständige sein (was nicht immer leicht zu erreichen ist), damit die Feuersgefahr ausgeschlossen werde. Als ziemlich beständig erwies sich uns folgende Stammlösung: In 35 ccm Terpentinöl werden 1,5 g Kaliseife gelöst, 25 ccm Wasser zugesetzt und tüchtig geschüttelt. Der Versuch, diesem Gemisch durch Zusatz von Kalilauge auflösende Eigenschaft zu verleihen, scheiterte an der ziemlich rasch eintretenden Verharzung des Terpentinöls. An Stelle von Terpentinöl wurde auch Tetrachlorkohlenstoff verwendet, der nicht feuergefährlich ist; die Versuche wurden aber wieder aufgegeben, da seine Einführung in die Praxis wegen seiner narkotischen Eigenschaften bedenklich erscheinen mufste, abgesehen davon, dafs dieser Körper sich mit der zur Emulsierung dienenden Kaliseife langsam umsetzt.

Das Sputum wurde in gleichen Mengen dem Desinfiziens zugesetzt, so dafs die Versuchsbedingungen im Verhältnis zu den Anforderungen in der Praxis eher ungünstig gestaltet wurden. Es wurde nicht umgerührt. Die Einwirkungszeit betrug im all-

n 8 bis 24 Stunden. Ausschlaggebend für die Beurtei-
: Wirkung war vor allem die Zeitdauer von 8 Stunden,
Abtötung über Nacht gefordert werden sollte. Um uns
Eigenschaften der zu prüfenden Präparate zu orientieren,
ine Reihe von Vorversuchen ausgeführt, einerseits kul-
nternehmungen, welche den Zeitpunkt der Abtötung der
Bakterien ermitteln sollten, anderseits Versuche mit
ırefesten Bazillus »Tobler II«, der in seinen biologischen
aften dem Tuberkelbazillus entspricht, auf gewöhnlichen
n hingegen schon nach 1 bis 2 Tagen makroskopisch
Kulturen bildet. Die Resultate der Sputumdesinfektion
h aber nur auf Grund richtig ausgeführter Tierversuche
en. Daher wurde auch in unserer Arbeit dem Versuche
chweinchen die Hauptbedeutung zuerkannt. Bei jeder
eihe wurde mindestens ein Kontrollversuch ausgeführt.
angegebenen Konzentrationen des Desinfektionsmittels
ı verstehen, daſs gleiche Sputummengen zu der betref-
ösung hinzugesetzt worden sind, z. B. 5proz. Kresol-
leiche Teile 5proz. Kresolseife und Sputum. Für kom-
ösungen ferner bedeutet z. B. 5% Lysol + 5% Kali-
e Mischung von gleichen Teilen 10proz. Lysol und
alilauge.

Kulturversuche mit Sputum.

ndelt sich nicht um Züchtung von Tuberkelbazillen,
ur um die kulturelle Untersuchung des Sputums auf
en Nährböden, also um orientierende Untersuchungen.
gläser wurden bedeckt gehalten. Die Sputumproben
hufs Waschung und Überimpfung mittels steriler, dicker
spiriert und übertragen. Das an den entnommenen
ftende Desinfiziens wurde durch mehrmaliges Waschen
Neutralisieren und Waschen entfernt. Sublimat, Queck-
altende Körper und Kupfersulfat wurden mit Ammo-
l, Lugolsche Lösung mit 2proz. Jodkalilösung, Alkalien
n mit stark verdünnter Essigsäure oder Kohlensäure

mit Zusa
Säuren n
Menge de
medien:
Die
Von
absehen,
sind. Di
Tuberkelb
10proz. K
beobachte
Tuberkelb
Eine kalt g
bekannt is
sterben.
positiv in
Versuch n
Uhlenhu
Entwicklun
und sogar
berkelbazil
auch das
infiziens i
ersichtlich

:satz einiger Tropfen steriler Lackmuslösung als Indikator, mit Sodalösung ebenfalls mit Lackmuszusatz neutralisiert. des überimpften Materials ca. $^1/_2$ ccm. Verwendete Nähr- ı: Bouillon und Schrägagar.

ie Beobachtung der Kulturen bei 37° dauerte 14 Tage.

on der Veröffentlichung sämtlicher Versuche wollen wir ən, da übereinstimmende Resultate nicht erlangt worden *Die negativen* Resultate beweisen auch nicht, dafs die :kelbazillen abgetötet worden sind, so konnte z. B. mit ›z. Kalilauge nach 5 Stunden ein Wachstum nicht mehr ıchtet werden, der Tierversuch lieferte aber in bezug auf rkelbazillen nach 8 Stunden trotzdem ein positives Resultat. kalt gesättigte Kupfersulfatlösung bedingte Abtötung, während ınt ist, dafs die Tuberkelbazillen darin nicht so rasch ab- en. Mit 5proz. Phenollösung war von drei Versuchen einer iv in 8 Stunden, die Tierversuche hingegen negativ. Ein uch mit Antiformin führte zur Bestätigung der Beobachtung enhuths[24]), in 4proz. Lösung kamen andere Bakterien zur vicklung, in 50proz. Antiforminlösung konnten wir nach 24 sogar nach 72stündiger Einwirkung Reinkulturen von Tu- :elbazillen erhalten. Nicht nur die Konzentration, sondern h das volumetrische Verhältnis zwischen Sputum und Des- ziens ist ausschlaggebend, wie z. B. aus folgender Tabelle chtlich ist:

Lysol.

ıwirkungsdauer	Prozent														
	1	3	5	1	3	5	1	3	5	1	3	5	1	3	5
	Mengenverhältnis: Desinfiziens : Sputum														
	1 : 2			1 : 1			2 : 1			5 : 1			10 : 1		
3 Stunden . .	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	−	−	+	−	−
5 » . .	+	+	+	+	+	−	+	−	−	+	−	−	−	−	−
8 » . .	+	+	+	+	+	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−
4 » . .	+	+	−	+	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−

Bezüglich der Desinfektionskraft der geprüften Präparate ſst sich folgendes sagen: Kalilauge ist unzuverlässig. *Die* :hwefelsäure und ihr saures Natriumsalz wirken kräftig. *Da*

durchaus nicht indifferente Körper sind und daher für
s kaum in Betracht kommen, wurde von weiteren Ver-
gesehen. Sublimat und Sublamin ergaben schlechte Re-
Wasserstoffsuperoxydkalilauge wirkt trotz vorzüglicher
nicht genügend stark keimtötend. Die Chlor enthal-
räparate Eau de Javelle und Antiformin leisten auch
puncto Desinfektion. Die Essigsäure hat uns ein
Resultat ergeben, günstig war hingegen Holzessig. Die
d gegenüber Sputum schlechte Desinfizienzien. Form-
lilauge entfaltet ziemlich prompte Wirkung, überhaupt
Kombination der Formaldehydpräparate mit Kalilauge
zu sein. Lysoform allein kam nicht zu genügender
Gute Resultate wurden mit Phenol, etwas weniger
nit Kresolseife und Lysol erhalten. Bei den letzteren
augenzusatz von gutem Einflufs.

ersuche mit dem säurefesten Stäbchen „Tobler II".

Versuche sind mit den vorherigen gar nicht vergleich-
wir es hier mit einer Reinkultur zu tun haben. Sie
rgenommen, um orientierende Resultate über die zu
len Desinfektionsmittel zu erlangen. Von Agarober-
aren wurden dichte Aufschwemmungen in physiolo-
chsalzlösung hergestellt. Diese wurden mit gleichen
zu prüfenden Lösung zusammengebracht. Aus dem
urden nach verschieden langer Zeit (5 Minuten bis
Proben entnommen und nach Ausspülen resp. Neu-
auf geeignete Nährböden übertragen. Die Versuche
etwa folgendermafsen resumieren: 1 promill. Sublimat
15 Minuten, 1 promill. Jodtrichlorid nach 5 Minuten.
nanganat, Kaliumarseniat und Ferricyankalium waren
6 promill. Lösungen von dem ersteren, konzentrierte
eiden letzteren Körpern hatten nach $1^1/_4$ Stunde noch
tung zur Folge. Kalilauge und Wasserstoffsuperoxyd
instiger, indem 5 proz. Kalilauge und 10 Vol. proz.
fsuperoxyd und das Gemisch der beiden Substanzen

zu je 5%
lysoform
mit Naph
günstig.
in 5—15
innert 2 S
Kristallvic
Eukalyptu
$1/_2$ Stunde
günstigste
7 Stunden
Im A
suche mit
er zu and
wurden m
angestellt
ferner Ver
vollständig
mit Wasse
nach 8, 1
Kombinati
Zusatz vo
stellen, m
wirkung.
anderen D
praktische

°/₀ die Bazillen nach 5 Minuten vernichtete. 3proz. Roh-n tötete in 3 Stunden nicht regelmäſsig ab. Die Versuche ıphthol in Kombination mit Kalilauge waren nicht un-;. Phenol, Kreolseife und Lysol töteten in 2proz. Lösung 15 Minuten. Konzentrierte wässerige Lackmuslösung war 2 Stunden unwirksam, ebenso 2proz. Malachitgrün- und ılviolettlösung. Von den geprüften Wolopräparaten wirkten ƴptusöl und Zitronell (3proz. Lösungen, Abtötung nach nde; Eukalyptusöl nach 15 Minuten keine Abtötung) am gsten. Die 10proz. Terpentinölemulsion tötete erst nach nden ab.

m Anschluſs an diese kurzen Angaben seien einige Ver- mitgeteilt, welche den Einfluſs des Glyzerinzusatzes, wie anderen Zwecken empfohlen wurde, prüfen sollten. Es en mit Sublimat und Lysol vergleichende Untersuchungen stellt mit und ohne Zusatz von 2, 5, 10 und 50 °/₀ Glyzerin, r Versuche mit Glyzerin allein. Diese letzteren hatten ein tändig negatives Resultat. In 10- und 50proz. Verdünnung Wasser sowohl, wie im reinen Glyzerin sind die Bazillen 8, 14 bis 48 Stunden nicht abgetötet worden. Was die ıbination von Glyzerin mit Sublimat anlangt, so war nach ıtz von 2°/₀ Glycerin eine günstige Wirkung nicht festzu-en, mit 5°/₀ Glyzerin scheinbar eine Erhöhung der Sublimat-kung. Hingegen sind die Versuche mit Lysol und auch mit eren Desinfektionsmitteln nicht so ausgefallen, daſs eine für ktische Verhältnisse brauchbare Erhöhung der desinfizierenden rkung nach Glyzerinzusatz angenommen werden könnte.

Einfluſs verschiedener Substanzen auf die physikalische Beschaffenheit des Sputums.

Es werden entweder Sputumballen von etwa 5 g in das im berschuſs vorhandene Lösungsmittel gebracht, oder Sputum und esinfiziens werden zu gleichen Teilen zusammengefügt. Um-hren wird selbstverständlich vermieden. Der Auflösungsgrad ird durch Übergieſsen in ein zweites Becherglas festgestellt.

Die Resultate sind in Tabelle I am Schlusse der Arbeit zusammengestellt.

Die besten Resultate in puncto Auflösung des Sputums erhielten wir mit dem Wasserstoffsuperoxyd-Kalilaugengemisch. Eine Anzahl von Versuchen mit Wasserstoffsuperoxyd allein oder mit Wasserstoffsuperoxyd mit geringem Alkalizusatz, 1—3 % Kalilauge, 2½ % Soda, 10 % Schmierseife zeigten uns, daſs dieses allein ganz unbrauchbar war. Die gebildeten Gasblasen konnten, da sie fest in Schleim eingeschlossen waren, nicht entweichen, so daſs die Schaumbildung manchmal so intensiv wurde, daſs das Sputum über den Glasrand gelangte. Sobald aber der Alkalizusatz stärker genommen wurde, 5 und mehr Prozent Kalilauge, gelang es, die Schaumbildung zu reduzieren. Wir haben uns den günstigen Auflösungseffekt wahrscheinlich so zu erklären, daſs das zähe Sputum zuerst durch die entstehenden Gasblasen mechanisch gelockert wird, wodurch dann die aufquellende Wirkung der Kalilauge besser zur Entfaltung gelangen kann. Schlieſslich werden die Mucine und Eiweiſskörper unter dem Einfluſs des chemisch sehr aktiven Wasserstoffsuperoxyds zerstört.

Die Kombination 5 Vol. % Wasserstoffsuperoxyd + 5 % Kalilauge erzielte meistens in einer Stunde vollkommene Auflösung des in gleicher Menge zugefügten Sputums. Wurde dieses in der Weise zugesetzt, daſs ein Teil sofort, ein Teil nach 1½ und endlich der Rest nach 9 Stunden zugefügt wurde, so war das Resultat nach einigen Stunden gleich günstig. Eine Kombination mit anderen wirksamen Desinfektionsmitteln scheiterte an dem Umstand, daſs diese sofort durch das Gemisch zerstört wurden. Die Verwendung der gasbildenden Eigenschaft des Wasserstoffsuperoxyds zur Auflockerung des Sputums hat noch den einen groſsen Nachteil, daſs bei nicht geschlossenen Gefäſsen ein Verspritzen des noch infektiösen Materials nicht ganz ausgeschlossen ist. Es werden sich daher manche Hygieniker gegen ein solches Präparat aussprechen.

Wir ersehen aus Tabelle I, daſs sich die verschiedenen geprüften Substanzen in ihrem Einfluſs auf die physikalische Beschaffenheit des Sputums sehr verschieden verhalten und daſs

n gutes Auflösungsvermögen noch keine gute Desinfektion zu ədingen braucht (Antiformin), während umgekehrt mit Gerinıng eine prompte Keimtötung Hand in Hand gehen kann ʾhenol). Hervorgehoben sei, dafs Wasser, Kochsalz, Soda und ottasche keinen oder einen geringen Einflufs hatten, dafs hinəgen die 5proz. Kalilauge sehr rasch das Sputum auf›ckert. Kalkmilch war nur in geringem Grade wirksam. Jodichlorid, Säuren und saure Salze, ferner die Salze der Schwer.etalle wirken koagulierend. Eine wirkliche Auflösung des putums trat nur mit 5proz. Wasserstoffsuperoxyd-Kalilauge ıd nach 72 Stunden mit 50proz. Antiformin ein. Gut aufıellend wirkten Eau de Javelle, Kaliumhypochlorid, Antiformin. lyzerin war ohne Einflufs, ebenso die Natronseifen, während ər 20proz. Schmierseife eine schwache Wirkung zukam. Formalehyd wirkt an und für sich koagulierend, doch kann durch usatz von Alkalien und Seifen diese Wirkung abgeschwächt der sogar aufgehoben werden, so dafs dann die aufquellende Virkung des Zusatzes zur Geltung kommt. Das gilt auch von en formaldehydhaltigen Seifenpräparaten: Lysoform und Rohysoform bewirken schwache Gerinnung, Morbicid technisch eringe Aufquellung. Phenol koaguliert stark, in Kombination ıit Kalilauge tritt trotzdem Aufquellung ein. Lysol und Kresoləife besitzen geringes Aufquellungsvermögen.

Tierversuche mit Sputum.

Zur endgültigen Entscheidung der Frage, ob ein Desinfektionsıittel Abtötung der Tuberkelbazillen im Sputum bewirkt habe, aren Versuche mit Meerschweinchen notwendig, da dieses unser əinstes Reagens in dieser Beziehung darstellt.

Es kamen frische Sputumgemische von 2—4 Patienten mit ehr bis ziemlich viel Tuberkelbazillen zur Verwendung. Zuerst vurde die Desinfektionslösung, 20—40 ccm, welche wir immer nit Leitungswasser herstellten, in ein Becherglas gebracht, lann das Sputumgemisch in genau gleicher Menge hineingegossen ›hne umzurühren. Die Gläser hielten wir bedeckt bei Zimmer-

temperatur in einer ziemlich dunkeln Ecke des Laboratoriums. Nach 8—24 Stunden (in einem Fall 48 Std.) wurden die Proben entnommen mittels ausgeglühter Pinzette oder steriler, dicker Pipetten. Das Desinfektionsmittel entfernten wir durch Neutralisierung und Spülung oder Spülung allein. Dann wurden die Sputumproben in physiologischer Kochsalzlösung oder Bouillon aufgeschwemmt. Die Meerschweinchen wurden immer am Bauche subkutan geimpft, um Versuchsfehler, speziell den Tod an akuter Peritonitis, zu vermeiden. Wir injizierten $\frac{1}{2}$—6 ccm Sputum. In jeder Versuchsseriie wurde mindestens ein Kontrolltier geimpft. Das Gewicht der Tiere schwankte ungefähr zwischen 250 und 350 gr. Sie wurden im Keller in Ställen untergebracht. In ca. 4—6 wöchigen Interwallen wurde das Gewicht kontrolliert. Die Tiere, welche nicht zugrunde gingen und keine stark vergröfserten Drüsen erkennen liefsen, wurden erst nach mehreren Monaten getötet. Sämtliche Tiere wurden seziert und die makroskopisch sichtbaren pathologischen Veränderungen protokolliert. Bei zu frühem Tod der Tiere mit nicht ganz eindeutigem Befund schwemmten wir das verdächtige Material auf und injizierten damit neue Tiere.

Wir wollen die mit den einzelnen Desinfektionsmitteln erhaltenen Resultate kurz zusammenfassend besprechen und bemerken gleich, dafs unsere Versuchsanordnung insofern eine für die Abtötung der Tuberkelbazillen ungünstige war, als grofse Mengen Sputum (gleiche Teile Sputum und Desinfiziens) verwendet und durch das Vermeiden irgendwelcher Bewegung ein rasches Vermischen verhindert wurde. Dadurch glaubten wir am besten den Verhältnissen in der Praxis zu entsprechen. Wir haben auch aus demselben Grunde die Anwendung höherer Temperaturen vermieden. Ferner wurden neben den einfachen Lösungen noch verschiedene Zusätze geprüft; die einen (Kalilauge, Soda, Seife) sollten eine bessere Auflösung bewirken, andere (Kochsalz, Glyzerin, Terpentinöl) die Wirkung des Desinfektionsmittels erhöhen.

Alkalihydroxyde. Unsere Versuche mit Kali- und mit Natronlauge sind ungünstig ausgefallen. 10 prozentige Lösungen

ı nach 8—24 Stunden eine Abtötung der Tuberkelbazillen
›utum nicht bedingt, obschon sie eine prompte Aufquellung
·kten. Diese Resultate stimmen mit den von Vincent[25])
›teilten nicht überein. Möglicherweise ist die Versuchs-
lnung daran schuld.

Sublimat. Auf Grund unserer Resultate müssen wir auch
Sublimat als ungeeignet bezeichnen. Unsere Ergebnisse sind
t so günstig wie die von Steinitz[20]) erhaltenen. Auch hier
t die verschiedene Versuchsanordnung jedenfalls eine Rolle.
1- und 5promill. Lösungen allein oder mit Zusatz von
hsalz oder von Glyzerin haben eine Abtötung der Tuberkel-
llen in 8 Stunden nicht bewerkstelligt. Ebenso ungünstig war
Asterol. Trotzdem dieses Quecksilberpräparat durch Eiweiſs-
fe in seiner bakteriziden Wirkung nicht gehemmt werden soll,
l unsere Resultate als ungünstig zu bezeichnen. Eine 5promill.
ung allein oder mit Kalilauge gemischt hat nach 24 Stunden
h nicht genügend gewirkt.

Wasserstoffsuperoxyd in Verbindung mit Kali-
ıge. Von den verschiedenen geprüften Gemischen ist dieses
bezug auf Auflösung des Sputums am günstigsten bei ge-
neter Kombination. Wird zu wenig Lauge zugesetzt, so ist die
ıaumbildung zu stark. Für unsere Zwecke hat sich das Gemisch
₀ Vol. % Wasserstoffsuperoxyd + 5% Kalilauge am besten
währt. Obschon aber das Sputum vollkommen flüssig gemacht
rd, ergab uns der Tierversuch ein schlechtes Resultat. Nach
stündiger Einwirkung obiger Kombination waren die Tuberkel-
zillen noch virulent.

Antiformin. In Bestätigung der Versuche von Uhlen-
uth[24]) und seiner Mitarbeiter hat sich das Antiformin trotz
erschiedener Zusätze, wie Kalilauge und Kochsalz, auch nicht
ewährt. Ungeachtet der weitgehenden Aufquellung des Sputums,
ie nach 3tägiger Einwirkung 50prozentiger Lösungen in wirk-
che Auflösung überging, blieben die Tuberkelbazillen nach
4stündiger Einwirkung der 20prozentigen Konzentration am
eben.

Formaldehyd in Verbindung mit Kalilauge. Formaldehyd wird als ein gegenüber Tuberkelbazillen ungünstig wirkendes Desinfektionsmittel bezeichnet. Die Abtötung bei der Wohnungsdesinfektion gelingt bekanntlich schwerer als die Vernichtung anderer Mikroorganismen, wie dies auch die Versuche von Anderes[1][2]) ergeben haben. Unsere Versuche, welche nur mit Kombinationen von Formaldehyd mit Kalilauge ausgeführt wurden, lauten nicht ungünstig. Ein Zusatz von 5% Kalilauge zu ½% Formaldehydlösung bewirkte Quellung des Sputums, während mit 5% Kalilauge und 2½% Formaldehyd eine geringe Koagulation zu konstatieren war. Eine achtel- bis halbproz. Lösung mit 5% Kalilauge hat nach 8 Stunden nicht abgetötet, hingegen hat die letztere Lösung in einem Versuch nach 24 Stunden ein gutes Resultat ergeben. Ferner sind die mit 2,5 prozentigen Lösungen nach 8 und 24 Stunden vorgenommenen Versuche günstig ausgefallen.

Lysoform und Roh-Lysoform. Der von verschiedenen Seiten erfolgten Empfehlung des Lysoform können wir nicht beipflichten. Nach 24- und sogar nach 48 stündiger Einwirkung der 2 prozentigen Lösung war eine Abtötung nicht erfolgt, mit 4 und 5% nach 24 Stunden ebenfalls nicht. Nur ein Rohlysoformkalilaugenversuch ist günstig ausgefallen.

Morbicid. Dieses in neuerer Zeit empfohlene Präparat, welches sich gegenüber Formalin vor allem durch einen nicht so starken Geruch auszeichnet, hat in Lösungen von 2% nicht günstige, in einer Konzentration von 5% nach 8 Stunden ebenfalls ungünstige, nach 24 Stunden hingegen günstige Resultate ergeben. Als ein Vorteil ist das milchige Aussehen der Lösungen zu bezeichnen. Über die Haltbarkeit und über die Dauer der Wirksamkeit der Lösung haben wir keine weiteren Versuche angestellt.

Phenol. Am günstigsten sind die mit Phenol angestellten Versuche ausgefallen, obschon die Koagulation des Sputums gerade hier eine intensive war. In 1 prozentiger Lösung war die Abtötung auch nach 24 Stunden nicht eingetreten. Mit 2,3 und 5 prozentigen Lösungen waren die Resultate in allen

Versuchen positive, indem Abtötung eintrat. Im Gegensatz ien die Versuche mit Kombinationen von Phenol und Kaliuge erwähnt. Der Zusatz von Kalilauge hat die Wirkung des ienols bedeutend vermindert. Ungünstiger als das Phenol eresen sich die Kresolseife und das Lysol. Beide hatten ich 8 Stunden in 2 und 3 und sogar in 5 prozentigen Lösungen ibefriedigende Resultate ergeben, indem auch mit der höheren onzentration nicht immer Tuberkelbazillenabtötung eintrat.

Die Laugen und Alkalien überhaupt haben bei unseren ersuchen einen ziemlich grofsen Platz eingenommen, weil sie :i der Auflösung des Sputums günstig wirken sollen. Was die eeinflussung der desinfizierenden Kraft der chemischen Subanzen durch Alkalizusatz anbelangt, so müssen wir betonen, id das verdient ganz besondere Berücksichtigung, dafs die eisten Antiseptica in alkalischer Lösung schlechter irken als in neutraler oder sauerer.

Gewisse Salze, wie das Sublimat, werden ganz unwirksam egen Ausfällung von Metalloxyden. Der Desinfektionswert des henols und Kresols wird ganz bedeutend herabgesetzt durch ie Bildung von Phenolat und Kresolalkali, wie dies auch chneider[18]) nachgewiesen hat. Die gleiche ungünstige Wirkung t, wenn auch schwächer, beim Formaldehyd zu beobachten. s bildet sich das Alkalisalz des Aldehyds, ferner tritt Spaltung ı Ameisensäure und Methylalkohol (Hans und Astrid Euler[5]) nd Polymerisation ein. Die ungünstige Beeinflussung der bakteiziden Wirkung wird nicht gehoben durch die Auflösung des putums. Unsere zahlreichen Versuche haben uns vielmehr rgeben, dafs das durch die Lauge aufgequollene Sputum mso fester am Boden des Gefäfses haften bleibt, so dafs ie Leerung und Reinigung der Spucknäpfe sich manchmal och schwieriger gestaltet als bei Verwendung gewöhnlichen Vassers. Umgekehrt wirken die koagulierenden Substanzen. Das ussehen der Sputumballen ist ein ungünstigeres, es haftet aber las Sputum nicht an. Daher ist auch die Reinigung eine viel eichtere. — Wird an Stelle von Alkali Seife verwendet, so vird dadurch die Aufquellung allerdings weniger günstig beein-

flufst, die Wirkung des Desinfektionsmittels aber unter Umständen erhöht, wie das auch aus den Untersuchungen von Schneider[18]) und Rasp[12]) hervorgeht.

Versuche mit Terpentinseifenemulsion. Nachdem uns einige Vorversuche ergeben hatten, dafs ein Gemenge von Terpentinöl mit Kaliseife in Wasser bei geeigneter Konzentration eine undurchsichtige, weifse Emulsion bildete, haben wir Versuche mit dieser Emulsion allein und mit verschiedenen Zusätzen von wirksamen Desinfektionsmitteln angestellt, um die bakterizide Wirkung auf tuberkulöses Sputum zu bestimmen. Unsere Versuche haben uns leider noch nicht eine haltbare, sicher wirksame Kombination ergeben; wir teilen die Resultate immerhin mit, um zu weiteren diesbezüglichen Nachforschungen anzuregen.

Von den mit diesen Terpentinkaliseifengemengen vermischten Antisepticis haben sich als besonders wirksam erwiesen der Formaldehyd und das Phenol, während Kalilauge die Emulsion zerstört. Nachprüfungen in bezug auf Haltbarkeit wurden nur mit den Formaldehydterpentinemulsionen angestellt. Die Emulsionen mit 2% Formaldehydgehalt in frischem Zustand bedingten nach 10 Stunden Abtötung der Tuberkelbazillen. Nach 14tägigem Stehen in dunklem Raume hatte die Wirksamkeit dieser Mischung so stark abgenommen, dafs erst nach 26 Stunden Vernichtung der Tuberkelbazillen eingetreten war. Eine andere, 1% Formaldehyd und 5% Kalilauge enthaltende Emulsion erwies sich schon in frischem Zustand als ungenügend. Neben der niederen Konzentration ist hier jedenfalls auch die ungünstige Wirkung der Kalilauge in Betracht zu ziehen. — Besonders wichtig schien uns, dafs das wirksam befundene Phenol durch Vermengen mit der Emulsion an Wirksamkeit nicht eingebüfst hat. Die Emulsion blieb allerdings bei Verwendung von 3 bis 5% Karbolsäure nicht vollständig konstant, doch war der obere Teil auch nach mehreren Tagen noch milchig weifs und undurchsichtig, auch wenn Sputum in gröfserer Menge darin enthalten war. Es erscheint auf Grund unserer Erfahrungen nicht ausgeschlossen, dafs eine geeignete Emulsion, welche die Wirkung des Antiseptikum nicht vermindert, hergestellt werden kann.

Schlufsfolgerungen.

Bei der Sputumdesinfektion sind eine Anzahl von Faktoren zu berücksichtigen. Neben der bakteriziden Wirkung, welche vor allem in Betracht kommt, ist das Aussehen des Sputums und der Geruch der verwendeten Lösung von praktischer Wichtigkeit. Diese verschiedenen Punkte haben uns bei unseren Versuchen geleitet; das Wesentliche sei hier in Kürze mitgeteilt:

A. Bakterizide Wirkung.

Bei der Beurteilung war ausschlaggebend die notwendige [Ei]nwirkungsdauer des betreffenden Mittels bei Zimmertemperatur, [so] dafs diejenigen Präparate, welche nach 8stündiger Einwirkung [noc]h keine vollständige Abtötung bedingt hatten, als ungünstig [betr]achtet werden.

1. Von den geprüften Desinfektionsmitteln haben günstige [Res]ultate ergeben:

a) Phenol. Durch Karbolsäure in 3 und 5proz. Lösung [sind] in wiederholten Versuchen tuberkelbazillenhaltige Sputa [nach] 8stündiger Einwirkung unschädlich gemacht worden.

[b]) Formaldehyd + Kalilauge. Die Abtötung der Tu[berke]lbazillen im Sputum erfolgte mit 2 $\frac{1}{2}$% Formaldehyd und [K]alilauge enthaltenden Lösungen in 8, mit $\frac{1}{2}$proz. Formal[dehyd]lösungen bei gleichem Laugengehalt in 24 Stunden. Gegen[über] der Karbolsäure mufs darauf hingewiesen werden, dafs [das] Gemisch wegen der Flüchtigkeit und geringen Haltbarkeit [des Fo]rmaldehyds für die Sputumdesinfektion kaum in Betracht [komme]n kann.

[2. U]ngünstig haben sich erwiesen:

[a) K]resolseife und Lysol, welche in 5proz. Konzen[tration n]ach 8 Stunden nicht sicher wirkten.

[b) L]ysoform und Rohlysoform, die in 2 bis 5proz. [Konzent]ration nach 24 Stunden in keinem Falle Abtötung der [Tuberkel]bazillen zur Folge hatten; in dem Gemisch Rohlysoform [+ K]alilauge 5% wurde das Sputum erst nach 24 Stunden [unschädli]ch gemacht.

c) Morbicid. Dieses neue Formaldehydseifenpräparat wirkte in 5 proz. Konzentration erst nach 24 Stunden günstig, nicht aber in 2 proz. Lösung, wie das von anderer Seite für die Wäschedesinfektion angegeben worden ist. Seine Eignung als Sputumdesinfiziens wird sich durch weitere Nachprüfungen besonders auch in bezug auf Haltbarkeit eruieren lassen.

d) Alle übrigen Präparate hatten eine noch ungünstigere Wirkung. Es seien hier die höchsten Konzentrationen und die längsten Wirkungszeiten angegeben, welche in jedem Falle geprüft wurden und noch nicht zur sicheren Abtötung der Tuberkelbazillen führten:

10 proz. Kaliauge nach 8 Stunden.
10 proz. Natronlauge nach 12 und 24 Stunden.
1 und 5 promill. Sublimat nach 8 Stunden.
1 und 5 promill. Sublimat mit 1 und 5 ‰ Kochsalz nach 8 Stunden.
1 und 5 promill. Sublimat mit 5% Glyzerin nach 8 Stunden.
5 promill. Asterol nach 10½ und 24 Stunden.
5 promill. Asterol mit 5% Kalilauge nach 10½ und 24 Stunden.
1, 2½ und 5 Vol. proz. Wasserstoffsuperoxyd mit 5% Kalilauge nach 24 Stunden.
20 proz. Antiformin nach 8 und 24 Stunden.
20 proz. Antiformin mit 5% Kalilauge nach 8 und 24 Stunden.
20 proz. Antiformin mit Kochsalz bis zur Sättigung nach 8 und 24 Stunden.
20 proz. Antiformin mit 5% Kalilauge und Kochsalz bis zur Sättigung nach 8 und 24 Stunden.

B. Physikalische Beeinflussung des Sputums.

Die verschiedenen verwendeten Antiseptica und Gemenge haben eine verschiedene Wirkung auf das Aussehen des Auswurfs. Im allgemeinen wirken die Alkalien aufquellend, die Säuren und Salze der Schwermetalle koagulierend.

Bei der Kombination der Laugen mit Desinfektionsmitteln mufs vor allem berücksichtigt werden, dafs eine grofse Anzahl Antiseptika dadurch bedeutend an Wirksamkeit einbüfst. Ferner verwandelt der Alkalizusatz die Sputa oft in eine klebrige Schleimmasse, welche das Ausleeren und Reinigen der Gefäfse erschwert.

Die Seifen haben eine geringe Quellung zur Folge; sie unterscheiden sich von den Laugen dadurch, dafs die Lösung etwas weniger durchsichtig ist. Sie beeinflussen in Kombination mit Desinfektionslösungen diese nicht so ungünstig wie die Laugen.

Die Verwendung von Farbstoffen hat den Nachteil, dafs die meisten haltbaren Präparate schwer zu entfernende Flecken erzeugen.

Auch beim Zusatz von Geruchskorrigentien müssen wir eventuelle chemische Umsetzungen in Betracht ziehen.

An Stelle der durchsichtigen verdienen undurchsichtige Lösungen Berücksichtigung. Wir haben speziell mit Terpentinölseifengemischen Emulsionen hergestellt, welche eine Unsichtbarmachung des Sputums bezweckten. Allerdings werden die obenauf schwimmenden Sputumballen doch nicht ganz verdeckt. Da diese Frage nicht mehr weiter verfolgt werden konnte, enthalten wir uns eines bestimmten Urteils, möchten aber weitere Nachprüfungen empfehlen.

Der Ansicht, dafs chemische Desinfektionsmittel für die Abtötung der Tuberkelbazillen im Sputum ganz unbrauchbar seien, können wir auf Grund unserer Erfahrungen nicht beipflichten. Dafs die physikalischen Desinfektionsmittel, vor allem das Kochen und das Verbrennen als die sichersten Methoden angesehen werden müssen, ist bekannt. Auf der anderen Seite haben aber unsere Versuche ergeben, dafs die Karbolsäure in 3 und in 5proz. Lösung ein Antiseptikum darstellt, welches eine Abtötung der Tuberkelbazillen im Sputum in einer für praktische Zwecke nicht zu langen Zeit (8 Stunden) ermöglicht. Leider sind die Versuche mit Kresolseife und mit Lysol, welche sich für die Praxis besser eignen würden, nicht so günstig ausgefallen. Es wird sich empfehlen, die Kresolseife, wo sie angewandt wird, 12 Stunden lang in 12proz. Lösung einwirken zu lassen. Hoffent-

lich wird es gelingen, eine haltbarere Emulsion herzustellen, welche neben intensiver bakterizider Wirkung auch die übrigen vom hygienischen Standpunkte aus zu stellenden Postulate erfüllt, wie Unsichtbarmachung des unappetitlichen Sputums und Verdeckung des üblen Geruches. Überall, wo Spucknäpfe mit flüssigem Inhalt aufgestellt sind, sollte an Stelle des Wassers eine wirksame, desinfizierende Lösung Verwendung finden.

Zum Schlusse fühle ich mich verpflichtet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. W. Silberschmidt, meinen herzlichsten Dank auszusprechen für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für das rege Interesse und die guten Ratschläge, mit welchem er mich stetsfort in liebenswürdigster Weise unterstützt hat.

Tabelle I.

Einwirkung der einzelnen Lösungen auf die physikalische Beschaffenheit des Sputums.

Präparat	Konzentration	Zustand des Sputums nach 24 stündiger Einwirkung
Leitungswasser		Am Boden, unbeeinflufst.
Kochsalz	kalt gesättigt	Am Boden zusammenhängende Schleimmasse.
»	5 %	Am Boden, unbeeinflufst.
Soda	2, 3 u. 6 % bezogen auf Na_2CO_3 anhydricum	Am Boden zusammenhängende adhärente Schleimmasse.
»	kalt gesättigt	Geringe Aufquellung.
Pottasche	do.	Unbeeinflufst (nach 6 Stunden).
Kalilauge	5 %	Schon nach 5 Minuten sinken die Ballen zu Boden und sind von transparentem und aufgefasertem Aussehen. Nach 24 Stunden starke Aufquellung. Kein Bodensatz. Von eigentlicher Auflösung kann nicht die Rede sein, da der Schleimcharakter beim Übergiefsen noch deutlich zum Vorschein kommt. Fader Geruch.
Kalziumhydroxyd	kalt gesättigt	Geringe Aufquellung.
Antiformin	2 %	Fast unbeeinflufst. Am Boden. Adhärenz. Nach 72 Stunden: Am Boden klebende verquollene Schleimmasse.
Glyzerin	20 %	Am Boden, unbeeinflufst.

Präparat	Konzentration	Zustand des Sputums nach 24 stündiger Einwirkung
Essigsäure	5 %	Gerinnung.
Holzessig	konzentriert	Gerinnung. Starker Geruch.
Natronseife	20 %	Unbeeinflufst.
Kaliseife	20 %	Geringe Quellung.
Formaldehyd } Kalilauge }	5 % 5 %	Gute Aufquellung. Stechender Geruch.
Formaldehyd } Kaliseife }	2 % 10 %	Aufquellung gering. Geruch verschwunden.
Lysoform	5 %	Schwache Gerinnung. Ebenso verhält sich das Rohlysoform. Geruch nicht unangenehm.
Rohlysoform } Kalilauge }	3 % 5 %	Gute Aufquellung. (Kombination mit Soda 5 % ohne Einflufs.)
Morbicid technisch	2 u. 5 %	Ganz geringe Aufquellung. Milchiges Aussehen. 2 % beinahe geruchlos.
Phenol	1—6 %	Gerinnung, Weifsfärbung. Starker, unangenehmer Geruch.
Phenol } Kalilauge }	5 % 5 %	Aufquellung gut. Gelbgrünfärbung.
Kresolseife	1—5 %	Geringe Aufquellung. Starker Geruch.
Kresolseife } Kalilauge }	5 % 5 %	Schon die Kombination ohne Sputum war etwas fadenziehend. Trotzdem ziemlich gute Aufquellung.
Lysol	1—10 %	Geringe Aufquellung. Starker Geruch.
Lysol } Kalilauge }	5 % 5 %	Schon die Kombination ohne Sputum war etwas fadenziehend. Trotzdem ziemlich gute Aufquellung. (Kombination mit Soda 5 % ohne Einflufs.)
Jodtrichlorid	1 %	Gerinnung, Intensiver Geruch.
Lugol	1 Jod : 2 Jodkali 300 Wasser	Unbeeinflufst.
Schwefelsäure	10 %	Gerinnung.
Natriumbisulfat	10 %	Gerinnung.
Kupfersulfat	kalt gesättigt	Gerinnung.
Sublimat	1 u. 5 ‰	Gerinnung.
Sublimat } Kochsalz }	5 ‰ 10 %	Gerinnung. Meist am Boden.
Sublamin	5 ‰	Gerinnung.

Präparat	Konzentration	Zustand des Sputums nach 24stündiger Einwirkung
Kalilauge Wasserstoffsuperoxyd	5 % 5 Vol. %	Leicht getrübte Flüssigkeit, an deren Niveau einige Gasbläschen schwimmen. Der fadenziehende Schleim ist vollständig verschwunden, das ganze Gemisch hat wässerige Konsistenz im scharfen Gegensatz zu allen übrigen geprüften Lösungsmitteln. Kein Bodensatz. Fader Geruch.
Eau de Javelle	konzentriert	Gute Aufquellung. Chlorgeruch. Gelbbraune Farbe.
Kaliumhypochlorit	12,4 %	Gute Aufquellung. Chlorgeruch. Gelbbraune Farbe. Zusatz von Kochsalz und Kalilauge waren nutzlos.
do.	1,2 %	Geringe Aufquellung. Adhärenz am Glase.
Antiformin	konzentriert	Die Aufquellung tritt rasch ein. Geringe Gasblasenbildung. Chlorgeruch. Gelbbraune Farbe.
do.	25 %	Aufquellung gut. Jedoch im gebildeten Schaum ungelockertes Sputum, am Boden kleben ziemlich zähe Schleimmassen. Nach 72 Stunden ist die Wirkung beinahe die des Wasserstoffsuperoxyd-Kalilaugengemisches.

Tabelle II.

Zusammenstellung der Tierversuche. (Subkutane Injektion an Meerschweinchen.)

Versuch Nr.	a. Desinfektionsmittel	b. Zusatz (Auflösungsmittel)	Konzentration a	Konzentration b	Dauer in Stdn.	Getötet × oder gestorben + nach Tagen	Resultat
III.	Kalilauge		10 %		8	+ 60	+
XIII.	Natronlauge		10 %		12	× 65	+
XIII.	»		10 %		24	× 65	+
VIII.	Sublimat		1 ‰		8	× 48	+
VIII.	»		5 ‰		8	× 48	+
VIII.	»	Kochsalz	1 ‰	1 ‰	8	× 48	+
VIII.	»	»	5 ‰	5 ‰	8	× 53	+

Versuch Nr.	a. Desinfektionsmittel	b. Zusatz (Auflösungsmittel)	Konzentration a	Konzentration b	Dauer in Stdn.	Getötet × oder gestorben + nach Tagen	Resultat
VIII.	Sublimat	Glyzerin	1 ‰	5 %	8	× 48	+
VIII.	»	»	5 ‰	5 %	8	× 48	+
XIII.	Asterol		5 ‰		10½	+ an Sepsis 4	Tod an Sepsis
XIII	»		5 ‰		24	× 45	+
XIII.	»	Kalilauge	5 ‰	5 %	10½	+ 53	+
XIII.	»	»	5 ‰	5 %	24	× 65	+
VII.	Wasserstoffsuperoxyd	Kalilauge	1 %	5 %	24	× 137	+
VII.	»		2½ %	5 %	24	+ 49	+
VII.	»		5 %	5 %	24	× 137	+
IX.	Antiformin		20 %		8	× 88	+
IX.	»		20 %		24	+ 37	+
IX.	»	Kalilauge	20 %	5 %	8	+ 77	+
IX.	»	»	20 %	5 %	24	× 70	+
IX.	»	Kochsalz	20 %	konz.	8	× 83	+
IX.	»	»	20 %	konz.	24	× 83	+
IX.	»	Kalilauge + Kochsalz	20 %	5 % konz.	8	× 80	+
IX.	»	»	20 %	5 % konz.	24	+ 64	+
X.	Formaldehyd	Kalilauge	⅛ %	5 %	8	+ 74	+
X.	»	»	¼ %	5 %	8	× 60	+
X.	»	»	½ %	5 %	8	+ 108	+
X.	»	»	½ %	5 %	24	× 154	—
X.	»	»	2½ %	5 %	8	× 148	—
X.	»	»	2½ %	5 %	24	× 148	-
XI.	Formaldehyd frisch	Terpentinöl-Kaliseife-Komb.	2 %	14 %; 0,6 %	10	× 166	—
XI.	»	»	2 %	14 %; 0,6 %	24	× 158	—
XII.	Formaldehyd 14 Tage alt	»	2 %	14 %; 0,6 %	9	× 104	+
XII.	»	»	2 %	14 %; 0,6 %	26	× 104	—
XI.	Formaldehyd frisch	»Stammlösung« Kalilauge-Komb	1 %	5 %; 5 %	10	× 166	—
XI.	»	»	1 %	5 %; 5 %	24	× 127	+
XII.	Formaldehyd 14 Tage alt	»	1 %	5 %; 5 %	9	+ 100	+
XII.	»	»	1 %	5 %; 5 %	26	× 104	+
I.	Lysoform		4 %		8	+ 68	+
I.	»		4 %		24	+ 73	+
I.	Rohlysoform		2 %		24	+ 132	+
I.	»		2 %		48	× 259	+

Versuch Nr.	a. Desinfektionsmittel	b. Zusatz (Auflösungsmittel)	Konzentration		Dauer in Stdn.	Getötet × oder gestorben + nach Tagen	Resultat
			a	b			
IV.	Rohlysoform		5 %		8	+ 130	+
IV.	›		5 %		24	+ 60	+
IV.	›	Kalilauge	5 %	5 %	9½	× 206	+
IV.	›	›	5 %	5 %	24	× 218	—
XIV.	Morbicid techn.		2 %		8	+ 30	+
XIV.	›		2 %		24	× 87	+
XIV.	›		5 %		8	× 87	+
XIV.	›		5 %		24	× 87	—
VI.	Phenol		1 %		24	+ 90	+
V.	›		2 %		8	× 186	—
V.	›		3 %		8	× 184	—
XIII.	›		3 %		24	× 61	—
II. IV.	›		5 %		8	× 160 × 218	— —
XIII.	›		5 %		24	× 61	—
VI.	›	Kalilauge	2 %	5 %	8	+ 39	+
IV.	›	›	5 %	5 %	8	× 206	+
XI.	› frisch	Terpentinöl-Kaliseife-Komb.	5 %	14 % 0,6 %	10	× 166	—
XI.	› frisch	›	5 %		24	× 164	—
VI.	Kresolseife		1 %		24	+ 145	+
V.	›		2 %		8	+ 150	+
V.	›		3 %		8	+ 30	+
II.	›		5 %		8	× 160	—
VI.	›	Kalilauge	2 %	5 %	8	× 150	+
XI.	›	Terpentinöl	5 %	14 %	10	+ 58	+
XI.	›	›	5 %	14 %	24	× 127	+
VI.	Lysol		1 %		24	× 157	+
I. IV. V.	›		2 %		8	+ 68 × 206 + 81	+ + +
I.	›		2 %		24	× 231	—
V.	›		3 %		8	× 184	+
IV. II.	›		5 %		8	× 206 × 160	+ —
III.	›	Soda	5 %	4 %	8	× 157	—
VI.	›	Kalilauge	2 %	5 %	8	× 157	+
III.	›	›	5 %	2 %	8	+ 83	+
XI.	›	Terpentinöl	5 %	14 %	10	× 71	+
XI.	›	›	5 %	14 %	24	+ 41	+

Protokoll der Tierversuche.

Es kamen Gemische von 2 bis 4 Sputa zur Verwendung, so dafs der Gehalt an schleimiger Flüssigkeit in allen Versuchen ungefähr der gleiche war. Sämtliche Sputa wurden zuerst mikroskopisch untersucht; nur an Tuberkelbazillen reiches Material wurde benutzt. Die für jeden Versuch angegebene Menge des Materials bezieht sich sowohl auf das Sputum als auch auf die Desinfektionslösung, da von jedem gleichviel genommen wurde.

I. Lysol 2%; Lysoform 4%; Rohlysoform 2%; je 20 ccm. Mehrmaliges Waschen in phys. Kochsalzlösung.

a) Lysol 2%, 8 Stunden, $2^1/_2$ ccm injiziert. 320 g; nach: 26 Tagen 372 g, Drüsen vergröfsert, Abszefs; 53 Tagen 337 g; 68 Tagen 300 g, an Tuberkulose gestorben.

b) Lysol 2%, 24 Stunden, $2^1/_2$ ccm injiz. 285 g; nach: 26 T. 402 g, 53 T. 487 g, 111 T. 687 g, 171 T. 800 g, 230 T. 790 g, getötet, keine Tuberkulose.

c) Lysoform 4%, 8 Stunden, $2^1/_2$ ccm injiz. 305 g; nach: 26 T. 338 g, Drüsen vergr., 53 T. 315 g, Abszefs, 68 T. 253 g, an Tuberkulose gestorben.

d) Lysoform 4%, 24 Stunden, $2^1/_2$ ccm inj. 372 g; nach: 26 T. 422 g, Dr. vergr., 53 T. 527 g, gravid, Abszefs, 73 T. 400 g, hatte geboren, an Tuberkulose gestorben.

e) Rohlysoform 2%, 24 Stunden, $2^1/_2$ ccm injiz. 320 g; nach: 26 T. 375 g, Dr. vergr., Abszefs, 53 T. 445 g, 111 T. 460 g, 132 T. 400 g, an Tuberkulose gestorben.

f) Rohlysoform 2%, 48 Stunden, $2^1/_2$ ccm injiz. 305 g; nach: 26 T. 432 g, 53 T. 492 g, Dr. vergr., Abszefs, 111 T. 617 g, 170 T. 645 g, 216 T. 610 g, 259 T. 625 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

g) Kontrolle $^1/_2$ ccm Aufschwemmung injiz. 350 g; nach: 26 T. 361 g, Dr. vergr., Abszefs, 53 T. 417 g, 111 T. 320 g, 121 T. 273 g, an Tuberkulose gestorben.

II. Phenol 5%; Lysol 5%; Kresolseife 5%; je 20 ccm. Dreimaliges Waschen in phys. Kochsalzlösung.

a) Phenol 5%, 8 Stunden, 3 ccm injiz. 330 g; nach 41 T. 457 g, 104 T. 540 g, 160 T. 540 g, getötet, keine Tuberkulose.

b) Lysol 5%, 8 Stunden, 4 ccm injiz. 320 g; nach: 41 T. 507 g, 104 T. 625 g, gravid, 160 T. 600 g, hatte geboren, getötet, keine Tuberkulose.

c) Kresolseife 5%, 8 Stunden, $3^1/_2$ ccm injiz. 280 g; nach: 41 T. 417 g, 104 T. 580 g, 160 T. 600 g, getötet, keine Tuberkulose (Kontrolltier an Sepsis eingegangen).

III. Kalilauge 10%; Lysol 5% + Kalilauge 2%; Lysol 5% + Soda 4%; je 10 ccm. (Für die Lysolsodalösung wurden die Sodakristalle direkt in 5 proz. Lysol aufgelöst. Die Prozentangabe bezieht sich auf Natrium carbonicum anhydricum.)

Neutralisieren durch Durchleiten von Kohlensäure und mehrmaliges Waschen in phys. Kochsalzlösung.

a) Kalilauge 10 %, 8 Stunden, 6 1/2 ccm injiz. 340 g; nach: 38 T. 347 g. Dr. vergr., Abszefs, 60 T. 250 g, an Tuberkulose gestorben.

b) Lysol 5 % + Kalilauge 2 %, 8 Stunden, 6 1/2 ccm. injiz. 390 g; nach: 38 T. 470 g, Dr. vergr., Abszefs, 83 T. 400 g, an Tuberkulose gestorben.

c) Lysol 5 % + Soda 4 %, 8 Stunden, 5 ccm injiz. 340 g; nach: 38 T. 527 g, 100 T. 705 g, 157 T. 710 g, getötet, keine Tuberkulose.

d) Kontrolle. 1 3/4 ccm Aufschwemmung inj. 380 g; nach: 38 T. 472 g, Dr. vergr., Abszefs, 100 T. 490 g, 146 T. 460 g, 176 T. 350 g, an Tuberkulose gestorben.

IV. Phenol 5 %; Phenol 5 % + Kalilauge 5 %; Lysol 2 %; Lysol 5 %; Rohlysoform 5 %; Rohlysoform 5 % + Kalilauge 5 %; je 10 ccm. Neutralisieren der Kalilauge durch sterile verdünnte Essigsäure mit Lackmus als Indikator und mehrmaliges Waschen in phys. Kochsalzlösung.

a) Phenol 5 %, 8 Stunden, 2 ccm, injiz. 325 g; nach 60 T. 540 g., 100 T. 555 g, 138 T. 685 g, 192 T. 810 g, 218 T. 800 g, getötet, keine Tuberkulose.

b) Phenol 5 % + Kalilauge 5 %, 8 Stunden, 2 ccm injiz. 330 g; nach: 60 T. 485 g, Dr. vergr., Abszefs, 100 T. 550 g, 138 T. 605 g, 206 T. 560 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

c) Lysol 5 %, 8 Stunden, 1 ccm injiz. 320 g; nach: 60 T. 540 g, Dr. vergr., 100 T. 605 g, 138 T. 680 g, 206 T. 700 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

d) Lysol 2 %, 8 Stunden, 1 ccm injiz. 300 g; nach: 60 T. 430 g, Dr. vergr., 100 T. 505 g, 138 T. 560 g, 206 T. 600 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

e) Rohlysoform 5 %, 8 Stunden, 2 ccm injiz. 315 g; nach: 60 T. 515 g, gravid, Dr. vergr., Abszefs, 100 T. 455 g, hatte geboren, 130 T. 410 g, an Tuberkulose gestorben.

f) Rohlysoform 5 %, 24 Stunden, 1 1/2 ccm injiz. 280 g; nach: 60 T. 461 g, an Tuberkulose gestorben.

g) Rohlysoform 5 % + Kalilauge 5 %, 9 1/2 Stunden, 1 ccm. injiz. 290 g, nach: 60 T. 475 g, 100 T. 485 g, 138 T. 580 g, Dr. vergr., 206 T. 640 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

h) Rohlysoform 5 % + Kalilauge 5 %, 24 Stunden, 1 ccm injiz. 285 g; nach: 60 T. 530 g, 100 T. 630 g, 138 T. 625 g, 218 T. 730 g, getötet, keine Tuberkulose.

i) Kontrolle. 8 Ösen injiz. 285 g; nach: 60 T. 385 g, Dr. vergr., 100 T. 355 g, 138 T. 375 g, 153 T. 340 g, an Tuberkulose gestorben.

V. Phenol 2 und 3 %; Lysol 2 und 3 %; Kresolseife 2 und 3 %; je 10 ccm. Waschen in phys. Kochsalzlösung.

a) Phenol 2 %, 8 Stunden, 1 ccm inj. 265 g; nach: 30 T. 375 g, 68 T. 375 g, 106 T. 490 g, 160 T. 740 g, 186 T. 540 g, getötet, keine Tuberkulose.

b) Phenol 3%, 8 Stunden, 1 ccm injiz. 325 g; nach: 30 T. 425 g, 68 T. 570 g, 106 T. 660 g, 160 T. 775 g, 184 T. 745 g, getötet, keine Tuberkulose.

c) Lysol 2%, 8 Stunden, 1 ccm injiz. 330 g; nach: 30 T. 350 g, Dr. vergr., Abszeſs, 81 T. 265 g, an Tuberkulose gestorben.

d) Lysol 3%, 8 Stunden, 1 ccm inj. 340 g; nach: 30 T. 490 g, gravid, Dr. vergr., 68 T. 405 g, hatte geboren, 106 T. 550 g, 160 T. 820 g, 184 T. 530 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

e) Kresolseife 2%, 8 Stunden, 1 ccm injiz. 320 g; nach: 30 T. 325 g, Dr. vergr., Abszeſs, 68 T. 485 g, 106 T. 450 g, 150 T. 400 g, an Tuberkulose gestorben.

f) Kresolseife 3%, 8 Stunden, 1 ccm injiz. 385 g; nach: 30 T. 255 g, an Tuberkulose gestorben.

g) Kontrolle. 3/10 ccm injiziert, 290 g; nach: 30 T. 280 g, Dr. vergr., Abszeſs, 68 T. 330 g, 106 T. 340 g, 134 T. 240 g, an Tuberkulose gestorben.

VI. Phenol 1%; Lysol 1%; Kresolseife 1%; Phenol 2% + Kalilauge 5%; Lysol 2% + Kalilauge 5%; Kresolseife 2% + Kalilauge 5%; je 30 ccm. Neutralisieren der Kalilauge durch sterile verdünnte Essigsäure mit Lackmus als Indikator und mehrmaliges Waschen in phys. Kochsalzlösung.

a) Phenol 1%, 24 Stunden, 1 ccm injiz. 330 g; nach: 52 T. 410 g, Dr. vergr., Abszeſs; 90 T. 340 g, an Tuberkulose gestorben.

b) Lysol 1%, 24 Stunden, 1 ccm injiz. 310 g; nach: 52 T. 530 g, Dr. vergr., 90 T. 610 g, 144 T. 615 g, 157 T. 600 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

c) Kresolseife 1%, 24 Stunden, 1 ccm injiz. 270 g; nach: 52 T. 325 g, Dr. vergr., Abszeſs; 90 T. 350 g, 145 T. 206 g, an Tuberkulose gestorben.

d) Phenol 2% + Kalilauge 5%, 8 Stunden, 1 ccm injiz. Nach 13 Tagen an Pneumonie eingegangen. Abszeſs am Abdomen, Lymphdrüsen wenig vergröſsert. Diese im Achatmörser mit sterilem Seesand verrieben und in Bouillon aufgeschwemmt, werden einem neuen Tiere teils intraperitoneal, teils subkutan injiziert: 320 g; nach: 39 Tagen 220 g, an Tuberkulose gestorben.

e) Lysol 2% + Kalilauge 5%, 8 Stunden, 1 ccm injiz. 330 g; nach: 52 T. 550 g, Dr. verg., Abszeſs, 90 T. 510 g., 144 T. 525 g, 157 T. 490 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

f) Kresolseife 2% + Kalilauge 5%, 8 Stunden, 1 ccm injiz. 340 g; nach 52 T. 470 g, Dr. vergr., Abszeſs, 90 T. 670 g, gravid, 144 T. 545 g, hatte geboren, 150 T. 550 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

g) Kontrolle. 1/5 ccm injiz. 350 g; nach: 52 T. 450 g, Dr. vergr., Abszeſs, 90 T. 480 g, 120 T. 400 g, an Tuberkulose gestorben.

VII. Wasserstoffsuperoxyd + Kalilauge; je 30 ccm. Neutralisierung mit Essigsäure und Waschen wie gewohnt.

a) H_2O_2 5% + KOH 5%, 24 Stunden, 2 ccm injiz. 350 g; nach 41 T. 385 g, Dr. vergr., Abszefs, 79 T. 430 g, 137 T. 470 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

b) H_2O_2 2½% + KOH 5%, 24 Stunden, 1,5 ccm injiz. 350 g; nach: 49 T. 280 g, an Tuberkulose gestorben.

c) H_2O_2 1% + KOH 5%, 24 Stunden, 1 ccm injiz. 300 g; nach: 41 T. 405 g, Dr. vergr., Abszefs, 79 T. 420 g, 137 T. 510 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

VIII. Sublimat 1 und 5‰; Sublimat 1‰ + Kochsalz 1‰; Sublimat 5‰ + Kochsalz 5‰; Sublimat 1‰ + Glyzerin 5%; Sublimat 5‰ + Glyzerin 5%; je 30 ccm. Waschen, Neutralisieren mit sterilem verd. Ammoniumsulfid, Waschen.

a) Sublimat 1‰, 8 Stunden, ¾ ccm injiz. 260 g; nach 48 T. 340 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

b) Sublimat 5‰, 8 Stunden, ¾ ccm injiz. 300 g; nach 48 T. 400 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

c) Sublimat 1‰ + Kochsalz 1‰, 8 Stunden, 1 ccm injiz. 280 g; nach 48 T. 370 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

d) Sublimat 5‰ + Kochsalz 5‰, 8 Stunden, 1 ccm injiz. 390 g; nach 53 T. 340 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

e) Sublimat 1‰ + Glyzerin 5%, 8 Stunden, 2 ccm injiz. 370 g; nach 48 T. 360 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

f) Sublimat 5‰ + Glyzerin 5%, 8 Stunden, 2 ccm injiz. 370 g; nach 48 T. 370 g, getötet, Tuberkulose verhanden.

g) Kontrolle. ½ ccm Aufschwemmung injiz. 350 g; nach 53 T. 440 g. getötet, Tuberkulose vorhanden.

IX. Antiformin 20%; Antiformin 20% + Kalilauge 5%; Antiformin 20% + Kochsalz konz.; Antiformin 20% + Kalilauge 5% + Kochsalz konz. (Das Kochsalz wurde in Überschufs zugesetzt und nach vollkommener Sättigung die überstehende Lösung abgegossen und verwendet); je 30 ccm Neutralisieren mit Essigsäure und Waschen wie gewohnt.

a) Antiformin 20%, 8 Stunden, 2 ccm injiz. 330 g; nach: 56 T. 510 g, Dr. vergr., Abszefs, 83 T. 590 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

b) Antiformin 20%, 24 Stunden, 2 ccm injiz. 280 g; nach: 37 T. 295 g, an Tuberkulose gestorben.

c) Antiformin 20% + Kalilauge 5%, 8 Stunden, 2 ccm injiz. 300 g; nach: 56 T. 360 g, Dr. vergr., Abszefs, 77 T. 300 g, an Tuberkulose gestorben.

d) Antiformin 20% + Kalilauge 5%, 24 Stunden, 2 ccm injiz. 280 g, nach: 56 T. 340 g, Dr. vergr., Abszefs, 70 T. 340 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

e) Antiformin 20 % + Kochsalz konz., 8 Stunden, 2 ccm injiz. 270 g; nach: 56 T. 400 g, Dr. vergr., Abszefs, 83 T. 370 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

f) Antiformin 20 % + Kochsalz konz., 24 Stunden, 2 ccm injiz. 250 g, nach: 56 T. 450 g, Dr. vergr., 83 T. 515 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

g) Antiformin 20 % + Kalilauge 5 % + Kochsalz konz., 8 Stunden, 2 ccm injiz. 270 g, nach 56 T. 400 g, Dr. vergr., 80 T. 390 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

h) Antiformin 20 % + Kalilauge 5 % + Kochsalz konz., 24 Stunden 1 ccm injiz. 250 g, nach: 56 T. 300 g, Dr. verg., 64 T. 260 g, an Tuberkulose gestorben.

i) Kontrolle. $^1/_2$ ccm dünner Aufschwemmung injiz. 235 g; nach: 56 T. 355 g, Dr. vergr., Abszefs, 70 T. 300 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

X. Formaldehyd + Kalilauge: a) $^1/_8$ % + 5 %, b) $^1/_4$ % + 5 %, c) $^1/_2$ % + 5 %, d) $2\,^1/_2$ % + 5 %; je 30 ccm. Bei der Herstellung der Kombinationen gingen wir von dem käuflichen 40 prozentigen Formalin aus. Eine 1 proz. Lösung stellten wir her durch Verdünnung 1:39, eine 5 proz. Lösung durch Verdünnung 1:7. In a, b und c Quellung des Sputums, Adhärenz am Boden des Becherglases; in d schwache Gerinnung, keine Adhärenz. Formalingeruch nur in d deutlich wahrnehmbar. Waschen, Neutralisieren mit Essigsäure und Ammoniak, Waschen.

a) Formaldehyd $^1/_8$ % + Kalilauge 5 %, 8 Stunden, 1 ccm injiziert 210 g; nach 43 T. 300 g, Dr. vergr. 74 T. 270 g, an Tuberkulose gestorben.

b) Formaldehyd $^1/_4$ % + Kalilauge 5 %, 8 Stunden, 1 ccm injiz. 230 g; nach: 43 T. 320 g, Dr. vergr., Abszefs, 60 T. 300 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

c) Formaldehyd $^1/_2$ % + Kalilauge 5 %, 8 Stunden 1 ccm injiz. 220 g; nach: 43 T. 320 g, Dr. vergr., 71 T. 355 g, 108 T. 320 g, an Tuberkulose gestorben.

d) Formaldehyd $^1/_2$ % + Kalilauge 5 %, 24 Stunden, 1 ccm injiz. 215 g; nach: 43 T. 410 g, 71 T. 505 g, 108 T. 790 g, gravid, 154 T. 650 g, hatte geboren, getötet, keine Tuberkulose.

e) Formaldehyd $2\,^1/_2$ % + Kalilauge 5 %, 8 Stunden, 1 ccm injiz. 200 g: nach: 43 T. 390 g, 71 T. 465 g, 108 T. 600 g, 148 T. 740 g, getötet, keine Tuberkulose.

f) Formaldehyd $2\,^1/_2$ %, + Kalilauge 5 %, 24 Stunden, 1 ccm injiz. 215 g; nach: 43 T. 400 g, 71 T. 495 g, 108 T. 600 g, 148 T. 710 g, getötet, keine Tuberkulose.

g) Kontrolle. $^1/_2$ % ccm Aufschw. injiz. 225 g; nach 43 T. 310 g, Dr. vergr., Abszefs, 76 T. 320 g, an Tuberkulose gestorben.

XI. Kombinationen mit Terpentinölemulsionen.

a) Kaliseife 0,6; Terpentinöl 14,0; Phenol. liquid. 5,0; Wasser 95,0 (Nach 14 Tagen war die Emulsion unten pelluzid, wurde beim Schütteln wieder gleichmäfsig milchig.)
b) Terpentinöl 14,0; Kresolseife 5,0; Wasser 95,0. (Blieb ziemlich stabil.)
c) Terpentinöl 14,0; Lysol 5,0; Wasser 95,0. (Wie b).
d) Kaliseife 0,6; Terpentinöl 14,0; Formaldehyd 5,0; Wasser 90,0. (Sofortige Schichtung. Oben undurchsichtig, weifs, unten pelluzid.)
e) »Stammlösung« 5,0; Kalilauge 10 % 50,0; Formaldehyd 40 % 2,5; Wasser 50,0. (Nach 14 Tagen: Klare, hellgelbe Flüssigkeit).

Zustand der Emulsionen und Sputa nach 9stündigem Vermischtsein:

a) Sp. geronnen, weifslich, schwimmend. Phenol-Terpentingeruch. Gute Emulsion. b) Sp. unbeeinflufst, weifslich, schwimmend und untergesunken. Geringe Entemulgierung. Kresolgeruch. c) Wie b. d). Sp. unbeeinflufst, schwimmend und untergesunken, oben 3 mm hoch weifse Emulsion, darunter Aufhellung. Formalinterpentingeruch. e) Sp. aufgequollen, untergesunken. Weifse, gleichmäfsige Emulsion. Fader Geruch.

Je 30 ccm Neutralisieren des Formaldehyds mit Ammoniak, des Alkali mit Essigsäure, Waschen.

a) Kaliseife + Terpentinöl + Phenol, 10 Stunden, 2 ccm injiz. 210 g; nach: 51 T. 420 g, 166 T. 655 g, getötet, keine Tuberkulose.
b) Kaliseife + Terpentinöl + Phenol, 24 Stunden, 2 ccm injiz. 260 g; nach: 51 T. 470 g, 164 T. 800 g, getötet, keine Tuberkulose.
c) Terpentinöl + Kresolseife, 10 Stunden, 1 ccm injiz. 230 g; nach: 58 T. 200 g, an Tuberkulose gestorben.
d) Terpentinöl + Kresolseife, 24 Stunden, 2 ccm injiz. 260 g; nach: 51 T. 425 g, 127 T. 490 g, getötet Tuberkulose vorhanden.
e) Terpentinöl + Lysol, 10 Stunden, 2 ccm injiz. 290 g; nach: 51 T. 335 g, Dr. vergr., Abszefs, 71 T. 350 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.
f) Terpentinöl + Lysol, 24 Stunden, 2 ccm injiz. 240 g; nach: 41 T. 170 g, an Tuberkulose gestorben,
g) Kaliseife + Terpentinöl + Formaldehyd, 10 Stunden, 2 ccm injiz. 280 g; nach: 51 T. 485 g, 166 T. 710 g, getötet, keine Tuberkulose.
h) Kaliseife + Terpentinöl + Formaldehyd, 24 Stunden, 2 ccm injiz. 280 g; nach: 51 T. 440 g, 158 T. 610 g, getötet, keine Tuberkulose.
i) »Stammlösung« + Kalilauge + Formaldehyd, 10 Stunden, 3 ccm injiz. 250 g; nach: 51 T. 410 g, 166 T. 740 g, gravik, getötet, keine Tuberkulose.
k) »Stammlösung« + Kalilauge + Formaldehyd, 24 Stunden, 2 ccm injiz. 290 g; nach: 51 T. 500 g, 127 T. 630 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.
l) Kontrolle. 1 ccm dünnen Aufschw. injiz. 300 g; nach: 51 T. 435 g, Dr. vergr., 71 T. 470 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

XII. Dieser Versuch wurde ausgeführt, um festzustellen, ob auch nach längerem Stehen die bakterizide Wirkung des Formaldehyds nicht merklich beeinträchtigt wird. Es kamen die Kaliseife + Terpentinöl + Formaldehyd- und die »Stammlösung« + Kalilauge + Formaldehyd-Emulsionen des Versuches XI. nach 14tägigem Stehen in dunkeln Raume zur Verwendung.

Je 30 ccm Neutralisieren mit Ammoniak und Essigsäure, Waschen.

a) Kaliseife + Terpentinöl + Formaldehyd. 9 Stunden, 2 ccm injiz. 230 g; nach: 40 T. 380 g, Dr. vergr., 104 T. 520 g getötet, Tuberkulose vorhanden.

b) Kaliseife + Terpentinöl + Formaldehyd, 26 Stunden, 2 ccm injiz. 270 g; nach: 40 T. 455 g, 104 T. 700 g getötet, keine Tuberkulose.

c) »Stammlösung« + Kalilauge + Formaldehyd, 9 Stunden, 2 ccm injiz. 230 g; nach: 40 T. 285 g, Dr. vergr., Abszefs, 100 T. 200 g, an Tuberkulose gestorben.

d) »Stammlösung« + Kalilauge + Formaldehyd, 26 Stunden, 2 ccm injiz. 230 g; nach: 40 T. 295 g, Dr. vergr., Abszefs, 104 T. 350 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

e) Kontrolle. 1/4 ccm injiz. 240 g; nach: 40 T. 255 g, Dr. vergr., Abszefs.

XIII. Natronlauge 10%; Phenol 3% und 5%; Asterol 5‰; Asterol 5‰ + Kalilauge 5%; bei Natronlauge je 20, bei den anderen Lösungen je 30 ccm. Die Lauge wurde mit Essigsäure, das Asterol mit Ammoniumsulfid neutralisiert, Waschen.

a) Natronlauge 10%, 12 Stunden, 2 ccm injiz. 260 g; nach: 45 T. 405 g, Dr. vergr., Abszefs, 65 T. 450 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

b) Natronlauge 10%, 24 Stunden, 1 1/2 ccm injiz. 240 g; nach: 45 T. 320 g, Dr. vergr., 65 T. 330 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

c) Phenol 3%, 24 Stunden, 2 ccm injiz. 230 g; nach: 45 T. 380 g, 61 T. 540 g, getötet, keine Tuberkulose.

d) Phenol 5%, 24 Stunden, 2 ccm injiz. 240 g; nach: 45 T. 455 g, 61 T. 620 g, getötet, keine Tuberkulose.

e) Asterol 5‰, 10 1/2 Stunden, 2 ccm injiz. Nach 4 T. an Sepsis gestorben.

f) Asterol 5‰, 24 Stunden, 2 ccm injiz. 240 g; nach: 21 T. gestorben (an Ileus?) 205 g. Lymphdrüsen wenig vergröfsert; sie werden im Achatmörser mit sterilem Seesand verrieben, in Bouillon aufgeschwemmt und einem neuen Tier injiziert.

ff) 260 g; nach: 25 T. 355 g, Dr. vergr., Abszefs, 45 T. 380 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

g) Asterol 5‰ + Kalilauge 5%, 10 1/2 Stunden, 2 ccm injiz. 240 g; nach: 53 T. 230 g, an Tuberkulose gestorben.

h) Asterol 5‰ + Kalilauge 5%, 24 Stunden, 2 ccm injiz. 235 g; nach: 45 T. 330 g, Dr. vergr., Abszefs, 65 T. 360 g, getötet Tuberkulose vorhanden.

i) Kontrolle 1/2 ccm Aufschw. injiz. 250 g; nach: 45 T. 380 g, Dr. vergr., Abszefs, 65 T. 400 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

XIV. Morbicid technisch 2% und 5%; je 50 ccm. Die 5 proz. Lösung hat noch schwachen Formalingeruch, der in der 2 proz. Verdünnung nicht mehr wahrzunehmen ist. Aussehen nach 8 Stunden: Sputum wenig gequollen, die Lösungen von milchigem Aspekt. Neutralisieren mit Ammoniak, Waschen.

a) Morbicid 2%, 8 Stunden, 2 ccm injiz. 320 g; nach: 24 T. 270 g, Dr. vergr., 30 T. 235 g, an Tuberkulose gestorben.
b) Morbicid 2%, 24 Stunden, 1 1/2 ccm injiz. 270 g; nach: 24 T. 320 g, Dr. vergr., Abszeſs, 87 T. 610 g, gravid, getötet, Tuberkulose vorhanden.
c) Morbicid 5%, 8 Stunden, 2 ccm injiz. 270 g; nach: 24 T. 375 g, 87 T. 490 g, Tuberkulose vorhanden.
d) Morbicid 5%, 24 Stunden, 2 ccm injiz. 270 g; nach: 24 T. 335 g, 87 T. 510 g, getötet, keine Tuberkulose.
e) Kontrolle. 1 ccm verdünnte Aufschw. injiz. 290 g; nach: 24 T. 290 g, Dr. vergr., Abszeſs, 87 T. 260 g, getötet, Tuberkulose vorhanden.

Literaturverzeichnis.

1. Anderes, Vergleichende Versuche über Wohnungsdesinfektion mittels Formaldehyddämpfen. Dissertation, Zürich 1907.
2. Anderes, Versuche über Entwicklungshemmung von ›säurefesten‹ Mikroorganismen und von Staphylokokken durch Formaldehydgas im Reagenzglas. Zentralblatt für Bakteriologie etc. Originale, Bd. XLV, 1908.
3. Bartel und Neumann, Zentralblatt für Bakteriologie etc. Originale, Bd. XLVII.
4. Bofinger, Zur Desinfektion tuberkulösen Auswurfs. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte; Bd. XX, S. 114.
5. Euler, Hans und Astrid, Zur Kenntnis des Formaldehyds und der Formiatbildung. Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft. Bd. XXXVIII. 3. 1905.
6. Flügge, Deutsche medizin. Wochenschrift 1904, Nr. 5, und: Die Verbreitungsweise und Bekämpfung der Tuberkulose auf Grund experimenteller Untersuchungen im Hygienischen Institut der Kgl. Universität Breslau 1897—1908.
7. Lissauer, Versuche mit Thoms ›Ptyophagon‹ als Beitrag zur Sputumhygiene. Deutsche medizin. Wochenschrift 1907, Nr. 34.
8. Moeller, Zeitschrift für Tuberkulose; Bd. 2, Heft 3; zitiert von Noetel.
9. Moeller, Zeitschrift für Tuberkulose; Bd. 2, Heft 2; zitiert von Noetel.
10. Nagelschmidt, Karbolsäure, Lysol, Lysoform. Therapeutische Monatshefte 1903, Heft 2.

11. Noetel, Die Unschädlichmachung des Auswurfs der Phthisiker und die Desinfektion von mit Auswurf beschmutzten Kleidern. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. 48, S. 1—12 u. 18—26 und: Flügge, Die Verbreitungsweise und Bekämpfung der Tuberkulose etc.
12. Rasp, Die Einwirkung der Seifen für sich und in Verbindung mit Phenol auf die Bakterien, vom chemischen Standpunkte aus betrachtet. Dissertation, Bern 1907.
13. Roepke, Zur Beseitigung und Desinfektion des Sputums. Zeitschrift für Medizinalbeamte 1903, Nr. 5. Zitiert von Bofinger und Noetel.
14. Roepke, Die Behandlung der Wäsche bei Tuberkuloseerkrankungen in der geschlossenen Anstalt und im Privathause. Zeitschrift für Tuberkulose, Bd. 8, Heft 3.
15. Schill und Fischer, Über die Desinfektion des Auswurfs von Phthisikern. Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. II, 1884. Zit. von Steinitz und Bofinger.
16. Schneider, Der Desinfektionswert von Lysoform bei mäfsig erhöhter Temperatur. Deutsche medizin. Wochenschrift 1906. Nr. 6.
17. Schneider, Über Desinfektionsmittelprüfung und neuere Desinfektionsmittel. Deutsche medizin. Wochenschrift 1909. Nr. 4.
18. Schneider, Ein Beitrag zur Kenntnis der Phenole in Verbindung mit Säuren und Gemischen mit Seifen vom chemischen und bakteriologischen Standpunkte aus. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. 53, S. 116.
19. Sobota, Tuberculosis. Vol. I, Nr. 7. Zitiert von Noetel.
20. Steinitz, Die Beseitigung und Desinfektion des phthisischen Sputums. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. 38, S. 118, und: Flügge, Die Verbreitungsweise und Bekämpfung der Tuberkulose etc.
21. Sugiyama, Untersuchungen über Sputumdesinfektion mit Ptyophagon. Dissertation, Rostock 1905. Zit. von Lissauer.
22. Thom, Über chemisch-yhysikalische Sputumdesinfektion. Separatabdruck aus den Sitzungsberichten der Niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde in Bonn, Sitzung vom 15. Dezember 1902, und: Neue Beiträge zur Frage der Sputumbeseitigung etc. Zeitschrift für Tuberkulose 1903, Bd. 4, Heft 2. Zitiert von Noetel und Lissauer.
23. Töpfer, Morbicid, ein neues Desinfektionsmittel. Deutsche medizin. Wochenschrift 1908, Nr. 35.
24. Uhlenhuth, Antiformin, ein bakterienauflösendes Desinfektionsmittel. Zentralblatt für Bakteriologie etc. Referate. Bd. XLII, Beiheft, und: Berliner klin. Wochenschrift 1908, Nr. 29.
25. Vincent, Sur la désinfection des crachats tuberculeux. Revue d'hygiène, janv. 1905

Über den Einflufs des Alkohols auf das Keimplasma.

Von

Prof. Dr. **Gustav Kabrhel.**

Für die richtige Schätzung der weitgreifenden nachteiligen Einflüsse des Alkohols auf die Menschheit mufs die Forschung der Wirkungen des Alkohols auf das Keimplasma als eines der wichtigsten Kapitel bezeichnet werden.

Man kann in dieser Richtung zweierlei Wege einschlagen. Der erste Weg ist der statistisch-kasuistische. Diese Methode wurde in der Frage der Wirkungen des Alkohols auf das Keimplasma zuerst angewandt.

In dieser Richtung mufs besonders auf die Arbeiten des Physiologen Bunge[1]) verwiesen werden, welcher auf Grundlage eines auf geeignete Art gesammelten und zusammengestellten Materiales zu dem Schlusse gelangt ist, dafs der Alkoholgenufs in der Nachkommenschaft zu degenerativen Wirkungen führt.

Ferner fallen in diese Kategorie der Forschung die Beobachtungen der Nachkommenschaft in den Familien solcher Eltern, welche dem Alkoholgenusse ergeben sind, eventuell das vergleichende Studium der Nachkommenschaft, welche unter dem Einflusse des Alkohols entstanden ist, mit der Nachkommenschaft von nüchternen Eltern, wie es namentlich Rösch und Demme unternommen haben.

---

1) Alkoholvergiftung und Degeneration. — Die zunehmende Unfähigkeit der Frauen, ihre Kinder zu stillen.

Die statistisch-kasuistische Methode, wenn selbe auch die Vorteile einer leichteren Durchführung besitzt, hat anderseits den Nachteil, daſs das Material, welches zum Studium der diesbezüglichen Fragen dient, von anderen zahlreichen Einflüssen nicht frei ist. Somit verliert es um so mehr an Beweiskraft, je weniger zahlreich das geprüfte Material ist.

Soll man zu einwandfreien, eindeutigen Resultaten gelangen, muſs man den zweiten Weg, d. i. den Weg der experimentellen Forschung, einschlagen.

Allerdings hat die experimentale Methode, bei der Lösung der angeführten Frage angewendet, namentlich den groſsen Nachteil, daſs sie sehr kostspielig ist; man muſs oft jahrelang eine gröſsere Anzahl von Tieren erhalten, und auch der Umstand ist miſslich, daſs die Methode sehr langwierig ist. Denn die Zeit, welche von der Befruchtung bis wieder zur Ausreifung der Frucht, zur Befruchtungsfähigkeit der Jungen, dauert, selbst bei Tieren, wo die Entwicklung ziemlich rasch fortschreitet, wie beispielsweise es bei den Hunden der Fall ist, beträgt doch fast ein ganzes Jahr

Die eben angeführten Gründe sind jedenfalls als die Hauptursache anzusehen, warum das Studium der besprochenen Fragen auf Grundlage der experimentellen Methode bis in die jüngste Zeit brachgelegen ist.

In bezug auf die diesbezügliche Literatur will ich namentlich auf die Arbeiten Mairets und Combemales[1]) und Laitinens[2]) hinweisen.

Mairet und Combemole lieſsen eine gesunde Hündin durch einen Hund belegen, welchem Absynth verabreicht wurde, die Hündin warf 11 Junge, von welchen nicht ein einziges sich als lebensfähig erwies, so daſs alle Jungen über kurz oder lang an verschiedenen Krankheiten zugrunde gegangen sind. Laitinen hat einen ähnlichen Versuch an Kaninchen unternommen, welchen er Alkohol verabreicht hat. Die unter diesen Verhältnissen geborenen Jungen haben gleichfalls eine geringe Lebensfähigkeit an den Tag gelegt und sind gröſstenteils zugrunde gegangen.

1) Zit. nach Dr. M. Helenius, Die Alkoholfrage.
2) Über den Einfluſs des Alkohols.

Vor zwei Jahren habe ich mit meinen Versuchen begonnen zum Zwecke des Studiums über den Einfluſs des Alkohols auf das Keimplasma.

Ich halte zu diesem Zwecke eine gröſsere Anzahl von Hündinnen und Hunden der verschiedenen Rassen, welchen ich Alkohol in verschiedenen Gaben reiche.

Im Verlaufe dieser Versuche bin ich bisher nur zur Sicherstellung eines Faktums gelangt, welches jedoch an und für sich schon so auſserordentlich interessant ist, daſs ich mich schon jetzt entschlossen habe, dieses Faktum der Öffentlichkeit mitzuteilen.

Es handelt sich hier um ein Paar von Spitzhunden. Als ich dieses Paar von Spitzeln erworben habe, waren es ganz junge Hunde, welche kurz zuvor von der Hündin abgestillt wurden. Zuerst war ich bestrebt, die Hündchen an den Biergenuſs zu gewöhnen. Es hat viel Mühe gekostet. Unter Anwendung der List, daſs das Bier dem Fleische oder Würsten beigemischt wurde und daſs den Hunden zu der Zeit Wasser nicht gereicht wurde, ist es gelungen, daſs das erwähnte Hundepaar sich so weit daran gewöhnt hat, daſs es, obwohl es das Bier ungern nahm, dennoch dasselbe nicht ganz abgelehnt hat.

Die Tagesgabe des Bieres betrug bei dem Hunde im Oktober 1906 15 ccm und wurde bis August 1907 in welcher Zeit die Paarung eingetreten ist, auf 175 ccm gesteigert. Bei der Hündin wurde im Oktober 1906 mit der Gabe von 12 ccm eingesetzt und bis zum März 1907 bis auf 35 ccm gestiegen.

Darauf wurde die Biermenge langsam erhöht und auſserdem durch die Zugabe von Alkohol verstärkt, so daſs im September bereits 105 ccm Bier und 9 ccm Alkohol verabreicht wurden.

Die Hunde waren sonst ganz gesund, und es konnten keine Symptome einer Abnormität an ihnen beobachtet werden. Im September 1907 hatte die Hündin, als sie bereits mehr als ein Jahr in meiner Anstalt bei Alkoholgenuſs verbracht hat, 4 Junge, 2 Hunde und 2 Hündinnen, geworfen.

Während der Stillung der Jungen wurde die Beobachtung gemacht, daſs die Hündin viel leichter und mit einer gewissen

grőſseren Lust als vordem ihre Tagesgabe an Bier genossen hat.

Die Jungen, welche ganz frisch und munter waren und gut gediehen sind, wiesen im Laufe der Stillung keine abnormalen Eigenschaften auf.

Eine sehr prägnante und charakteristische Abweichung wurde erst beobachtet, als die Tiere nebst der Muttermilch auch das der Mutter vorgesetzte Futter zu genieſsen begannen.

Es konnte nämlich wahrgenommen werden, daſs die jungen Hunde das der Mutter vorgesetzte Bier, selbst aus freiem Willen, aufgesucht haben. Diesen Jungen wurde auch fernerhin regelmäſsig Bier gereicht. Das Resultat davon ist, daſs die Jungen jetzt das Bier vorziehen und das Wasser verschmähen, so daſs sie ihren Durst ausschlieſslich mit Bier löschen.

Vergleichen wir nun das Betragen der Eltern mit dem Betragen der Jungen, so finden wir folgendes:

Bei den Eltern war der Widerwille gegen den Biergenuſs ein derartiger, daſs er nur durch Mischung des Bieres mit einer anderen beliebten Nahrung, welche Durst hervorruft, wie es die gesalzenen und gepfefferten Würste sind, und unter Entzug des Wassers gebrochen werden konnte.

Bei den Jungen der Eltern, welchen auf die angeführte Art regelmäſsig Bier verabreicht wurde, sehen wir, daſs der Widerwille gegen das Bier nicht nur ganz schwindet, sondern im Gegenteile sich ein Widerwille gegen das Mittel, welches sonst allgemein zum Stillen des Durstes bei den Tieren in Anwendung kommt, gegen das Wasser, sich einstellt.

Diese Eigenschaft der Jungen, welche in bezug auf andere körperliche Eigenschaften keine Abnormitäten zeigten, ist jedenfalls als die Folge gewichtiger Veränderungen des Keimplasmas resp. der im mütterlichen Körper lebenden Frucht aufzufassen.

Um zu einer tieferen Kenntnis der diesbezüglichen Beziehungen zu gelangen, erscheint es nötig, auf folgende Tatsachen hinzuweisen.

Wie bekannt, sind die Tiere mit gewissen Instinkten ausgestattet, welche ihnen bei der Wahl ihrer Nahrung maſsgebend sind. Diese Instinkte, welche erblich sind, stehen bei höheren Tieren mit gewissen Qualitäten der Nervenapparate im Zusammenhang.

In manchen Beziehungen sind diese Instinkte derart entwickelt, daſs sie als Schutzmaſsregeln fungieren, damit das Tier nicht beim Genusse etwa ihm schädlicher Nahrung einen Nachteil erleide. Bei dem Menschen finden wir solche Schutzvorrichtungen auf Grund der Instinkte nicht mehr. Der Mensch ist schon auf sein Intellekt angewiesen.

Betrachten wir nun das Betragen des Elternpaares unserer Hunde, da finden wir, daſs der Instinkt, den Biergenuſs abzulehnen, erst nach langer Zeit und da nicht vollkommen aufgehoben werden konnte. Was die Jungen anbelangt, so genügte schon die 7 Wochen dauernde Schwangerschaft, in welcher Zeit der Alkohol auf das Keimplasma einzuwirken Gelegenheit hatte, um in gewissen Elementen des Keimplasmas des Nervensystems eine pathologische Veränderung hervorzurufen, welche eine vollkommene Zerstörung, Schwindung des sonst normal erblichen Instinktes zur Folge hatte, so daſs das Junge zur Stillung seines Durstes Wasser ablehnt und dem alkoholischen Getränke den Vorzug gibt.

Des weiteren erscheint es nötig, noch auf den folgenden wichtigen Umstand hinzuweisen. Beim Elternpaare, der das Bier vorziehenden Jungen zeigten sich bisher infolge des Alkoholgenusses keine schädlichen Folgen. Sowohl der Hund als die Hündin haben den Anschein der besten Gesundheit. Übrigens wird es als Tatsache angenommen, daſs die Hunde dem schädigenden Einflusse des Alkohols schwer zugänglich sind.

Auch die Alkoholdosen, welche man bei ihnen angewendet hat, waren gar nicht beträchtlich. Nichtsdestoweniger hat der regelmäſsige Genuſs derselben am Keimplasma resp. an der demselben entspringenden Frucht bestimmte pathologische Einflüsse im Bereiche der Nervenapparate herbeigeführt.

Zieht man die hohe Widerstandskraft der Hunde in bezug auf die schädlichen Einwirkungen des Alkohols in Betracht, so kann man den Schlufs ziehen, dafs das Keimplasma resp. die Gewebselemente der sich im Mutterleibe entwickelnden Frucht den schädlichen Einwirkungen des Alkohols gegenüber, und zwar namentlich in der Sphäre der Nervenapparate unendlich empfindlicher sind als die Gewebselemente des erwachsenen Organismus.

Ferner mufs noch auf folgendes hingewiesen werden.

Auf Grund der statistisch-kasuistischen Methode wurde die Vermutung ausgesprochen, dafs die Trinksucht vererbt wird.

Wie man sieht, liefert mein Experiment einen strikten Beweis dafür, dafs tatsächlich die Neigung zu den alkoholischen Getränken von den Eltern auf die Kinder übergehen kann. Hinsichtlich der gemachten Annahme, dafs es sich in solchen Fällen um eine erbliche Eigenschaft etwa handelt, bin ich jedoch einer anderen Ansicht. Um dies klarzulegen, will ich folgendes hervorheben.

Es ist bekannt, dafs die Entstehung neuer Eigenschaften des Organismus (so dafs dieselben zu einer unverwischbaren Komponente des Keimplasmas werden — welche Eigenschaft auch weiter fortdauern würde, selbst wenn die äufseren Umstände, die zu den Veränderungen geführt haben, geschwunden sind —, was ja das charakteristische Merkmal der erblichen Eigenschaften ist) sich nicht so leicht einstellt, so dafs Versuche, eine solche erbliche Komponente im Keimplasma hervorzurufen, fehlschlagen.

Wenn wir den Übergang der Neigung zum Trinken von den Eltern auf die Kinder von diesem Standpunkte betrachten, erscheint es nicht ganz bewiesen, dafs es sich hier um die Entstehung einer erblichen Eigenschaft im Keimplasma handeln müfste.

In Anbetracht dieser Sachlage erscheint es am zweckmäfsigsten, die Erklärung vorzuziehen, dafs es sich bei der Entstehung der besagten Neigung um schädliche Einwirkungen des Alkohols auf das Keimplasma resp. auf die sich im Mutterleibe entwickelnde Frucht handelt, ohne aber die erbliche Seite dieses Phänomens in den Vordergrund zu stellen.

Im Sinne dieser Annahme wäre für das Zustandekommen dieser Eigenschaft der Alkoholgenuſs der Mutter ein bedeutend gefährlicheres Moment als der Alkoholgenuſs des Vaters, weil beim Alkoholgenuſs von seiten der Mutter zu den etwaigen Defekten der weiblichen oder männlichen Keimzelle noch die während der ganzen Schwangerschaft sich geltend machenden Einflüsse hinzutreten.

Ich will ferner noch auf eine Erscheinung hinweisen. Häufig sieht man kleine, kaum abgestillte Kinder, welche mit Appetit Bier trinken, ohne daſs sie einen Widerwillen gegen ein so bitteres Getränk zeigen würden. Ich zweifle nicht daran, daſs diese Erscheinung durch den Umstand hervorgerufen ist, daſs der Vater und namentlich die Mutter während der Schwangerschaft dem Biergenuſs gehuldigt hat. Es wird ja im Sinne der herrschenden Ansichten den Müttern in der Zeit der Schwangerschaft häufig empfohlen, reichlich Bier zu trinken, daſs sie reichlicher Milch absondern.

Beitrag zur Kenntnis des Stoffwechsels des Micrococcus pyogenes aureus.

Von

Stabsarzt Dr. **Riemer,**

Privatdozent für Hygiene an der Universität zu Rostock.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität zu Rostock.
Direktor: Prof. Dr. Pfeiffer.)

Einleitung.

Bisher hat man beim Studium der für die menschliche und tierische Medizin in Betracht kommenden Mikroorganismen das Hauptinteresse der Erforschung ihrer pathogenen Eigenschaften zugewandt. Als die jetzt allgemein geltende Tatsache, daſs die ansteckenden Krankheiten durch kleinste Lebewesen hervorgerufen werden, durch den Nachweis der einzelnen Krankheitserreger begründet wurde, da lag wohl kein anderer Gedanke näher als der, zunächst aus dem Heere der Bakterien alle die Arten herauszufinden, welchen überhaupt krankmachende Eigenschaften für Mensch und Tier zukommen. Gleichzeitig war mit dieser Forschungsrichtung auch die Möglichkeit einer Gruppierung der einzelligen Organismen gegeben. Es wurde als Maſsstab für die Einteilung ihre Schädlichkeit oder Unschädlichkeit angenommen. Man konnte so leicht unter Zugrundelegung dieses Gesichtspunktes die groſse Masse der Bakterien in pathogene und nicht pathogene Arten, in Parasiten und Saprophyten trennen. Es läſst sich nicht leugnen, daſs dieses Vorgehen äuſserst praktisch war, um überhaupt erst einmal einen Überblick über die Be-

deutung der Mikroorganismen für die menschliche und tierische Pathologie zu gewinnen. Die Kenntnis der einzelnen Krankheitserreger konnte dann erst die Grundlagen für weitere wissenschaftliche Forschungen abgeben.

Es ist ohne weiteres klar, dafs die skizzierte Forschungsrichtung in der Bakteriologie notwendigerweise auch von bestimmendem Einflusse auf die im Laufe der Zeit sich entwickelnde bakteriologische Technik werden mufste. Wenn man daraufhin die gebräuchlichen Untersuchungsmethoden betrachtet, so findet man, dafs sie in der Hauptsache in der Richtung ausgebildet sind, die Krankheitserreger in den Körpergeweben und Ausscheidungen nachzuweisen, sie zu isolieren und durch Prüfung auf den erprobten Nährmedien ihre besonderen Wachstumseigentümlichkeiten festzustellen, um sie untereinander und von anderen unschädlichen Arten unterscheiden zu können. Die Erforschung ihrer Lebensbedingungen und sonstigen biologischen Eigenschaften war lediglich Mittel zum Zweck, nämlich sie als Krankheitserreger möglichst genau zu charakterisieren. Auf diese Weise gelangte man zwar zur Kenntnis einer Reihe von pathogenen und nicht pathogenen Bakterienarten, die sich mit den Hilfsmitteln der bakteriologischen Technik leidlich gut voneinander unterscheiden liefsen; es fehlte jedoch die Kenntnis der inneren Lebensbeziehungen, um diese Teile zu einem systematisch aufgebauten Ganzen zusammenfassen zu können.

Wenn auch zugegeben werden mufs, dafs die Möglichkeit, einzelne Krankheitserreger auf künstlichen Nährböden in Reinkultur zu züchten, einen gewaltigen Fortschritt bedeutet, ja sogar die Grundlagen für alle weiteren Forschungen darstellt, wenn ferner auch die an den Laboratoriumstieren gemachten Versuche wertvolle Aufschlüsse über die pathogenen Eigenschaften der Mikroorganismen und die Reaktion des tierischen Körpers auf die Infektion zu geben vermögen, so sind doch unsere Kenntnisse von den innern Lebensvorgängen der einzelnen Organismen beim Wachstum und bei der Entfaltung von pathogenen Eigenschaften gelegentlich ihres Eindringens in den tierischen Körper nur äufserst geringe geblieben. Mit Hilfe der Züchtungsmethoden

und des Tierversuches sind in bezug auf diese Vorgänge wesentliche Fortschritte kaum zu erwarten. Aber auch auf dem speziell ihr zugehörigen Gebiete beginnt die bakteriologische Technik bereits zu versagen, nämlich bei der Unterscheidung pathogener Bakterienarten von verwandten und nicht pathogenen.

Je gröfser die Zahl der Mikroorganismen wird, die in den Kreis der Forschung hineingezogen werden, um so stärker treten die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen pathogenen und nicht pathogenen Arten hervor. Man ist in vielen Fällen genötigt, zu geringen Wachstumsunterschieden seine Zuflucht zu nehmen, um überhaupt eine Verschiedenheit herauszufinden. Sehr deutlich tritt zum Beispiel diese Schwierigkeit zutage, wenn es sich darum handelt, einen isolierten Bazillus als Typhusbazillus zu identifizieren. Seiner Bedeutung als gefürchteter Krankheitserreger verdankt gerade der Typhusbazillus eine sehr gründliche Erforschung seiner Wachstumseigentümlichkeiten und Wirkungsweise. Mit der peinlichsten Genauigkeit hat man sein Verhalten zu den einzelnen Nährmedien festgelegt und die Forderung aufgestellt, dafs nur der Mikroorganismus als Typhusbazillus angesehen werden darf, der ein diesem Schema entsprechendes Wachstum zeigt. Dasselbe Verhalten zu den Nährmedien besitzt jedoch ein nicht pathogener Verwandter des Typhusbazillus, der Bacillus faecalis alkaligenes. Nur in dem einen Punkte weicht er von ihm ab, dafs er in Lackmusmolke keine Säure produziert. Wenn man dazu berücksichtigt, dafs unsere künstlichen Nährböden sehr selten stets die gleiche Zusammensetzung in bezug auf Quantität und Qualität der Nährstoffe besitzen, und dafs nach unseren Erfahrungen eine dadurch bedingte Variation der Lebensbedingungen auch eine Veränderung der Lebensäufserungen der Mikroorganismen zur Folge hat, so mufs man zugestehen, dafs mit dieser Methode nur ein sehr erfahrener Beobachter zu sicheren Ergebnissen gelangen kann. Als letzte Zuflucht bleibt schliefslich nur noch die spezifische Serumreaktion übrig, und auch diese hat durch die Erfahrungen der letzten Zeit (Mitagglutination und Gruppenagglutination) nicht unerheblich von ihrer ausschlaggebenden Bedeutung eingebüfst.

Ganz ähnliche Verhältnisse bietet die Trennung der einzelnen Ruhrbazillentypen voneinander dar. Auch bei ihnen dient ein einziges Wachstumsmerkmal, das Verhalten auf Lackmus-Mannitagar zur Unterscheidung; ausschlaggebend ist im wesentlichen auch nur die Serumreaktion. Weitere Beispiele sind die Schwierigkeiten bei der Unterscheidung von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen.

Ein anderes der Variation der Mikroorganismen bei veränderten Lebensbedingungen sehr ähnliches Phänomen ist die erst in neuester Zeit beobachtete sogenannte Mutation der Bakterienstämme. Man versteht darunter eine scheinbar ohne erkennbaren Grund auftretende sprunghafte Variation der Mikroorganismen, die sich in dem Auftreten neuer Eigenschaften kenntlich macht. Es kann die Mutation sogar die Entstehung neuer Rassen und Typen herbeiführen. Der Umstand, daſs ein Bakterienstamm ohne nachweisbare Ursache andere Wachstumseigentümlichkeiten und andere pathogene Eigenschaften zeigt, ist vollends dazu angetan, die Schwierigkeit der Abgrenzung der Arten durch die gegenwärtig gebräuchlichen bakteriologischen Methoden noch mehr zu erhöhen, zumal wir nach den bisherigen Erfahrungen die Mutation weder willkürlich beherrschen noch durch äuſserliche Mittel hervorrufen können.

Alle diese Erfahrungen weisen mit Notwendigkeit darauf hin, daſs die gebräuchlichen bakteriologischen Untersuchungsmethoden einer Erweiterung bedürfen, wenn wir dem Verständnis der Wachstumsvorgänge bei den Bakterien und ihrer Wirkungsweise näher kommen wollen.

Es fragt sich nun, nach welcher Richtung hin ein solcher Ausbau der bakteriologischen Technik vorgenommen werden müſste. Um dieses entscheiden zu können, ist es notwendig, die Punkte näher zu erläutern, auf welche sich die Erweiterung unserer Kenntnisse zu erstrecken hat.

Das in der Bakteriologie übliche Züchtungsverfahren auf den verschiedenen Nährmedien bezweckt in der Hauptsache nur die Feststellung der Form und Intensität des Wachstums der Bakterien, um daraus Anhaltspunkte für die Verschiedenheit der

einzelnen Arten zu gewinnen, daneben wird noch die Säure- und Alkalibildung als weiteres Unterscheidungsmerkmal herangezogen. Die Veränderungen jedoch, welche der Nährboden durch das Bakterienwachstum erleidet, ferner, welche Stoffe die Organismen zum Aufbau und zur Erhaltung des Stoffwechselgleichgewichtes verwenden, und in welcher Menge sie verbraucht werden, kann bei dieser Beobachtungsmethode wenig oder gar nicht berücksichtigt werden. Doch ist gerade die Kenntnis dieser Vorgänge allein imstande, uns ein wirkliches Bild von den sich bei dem Leben der Mikroorganismen abspielenden Umsetzungen und damit vielleicht auch einen Einblick in ihre pathogene Wirkung zu geben.

Es ist demnach in erster Linie notwendig, in systematischer Weise der Erforschung des Stoffwechsels der einzelligen Organismen näher zu treten, d. h. die zu ihrem Aufbau nötigen Nährstoffe der Qualität und Quantität nach kennen zu lernen und die entstehenden Stoffwechselprodukte zu bestimmen. Derartige Untersuchungen lassen sich aber nur durchführen, wenn die Arbeitsmethoden der Chemie in ausgiebigerem Mafse, als es bisher geschehen ist, herangezogen werden. Obwohl durch die Anwendung der Chemie die bakteriologischen Untersuchungsmethoden wesentlich kompliziert werden, so läfst sich jedoch diese Erschwerung im Interesse der Erweiterung unserer Kenntnisse nicht umgehen.

Wenn somit durch die Erschliefsung eines weiteren Arbeitsfeldes die Aussichten auf ein tieferes Eindringen in das Verständnis des Bakterienlebens bedeutend wachsen, so darf dabei doch nicht übersehen werden, dafs die bei solchen Stoffwechseluntersuchungen zu überwindenden Schwierigkeiten allein in technischer Beziehung ganz erheblich sind. Während die höher organisierten Lebewesen schon infolge ihrer Gröfse und der damit im Zusammenhang stehenden Möglichkeit einer genaueren Bestimmung des Nahrungsbedarfes, des Ansatzes und Umsatzes von Nahrungsstoffen, gute Versuchsobjekte darstellen, so fällt dieser Vorteil bei den Bakterien völlig weg. Wegen der Kleinheit der Mikroorganismen ist es unmöglich, das einzelne Individuum zum Versuche zu verwenden, man ist vielmehr ge-

nötigt, Millionen davon als eine Einheit zusammenzufassen, wenn man überhaupt zu einem Resultat gelangen will. Während bei den höheren Lebewesen die Ernährung nach feststehenden Nahrungsstoffgruppen bestimmt werden kann, ist sie bei den Mikroorganismen insofern wesentlich komplizierter, als wir bis jetzt mit Sicherheit kaum bestimmen können, welche Substanzen ihrem Nahrungsbedarfe überhaupt dienen. Es kommen für sie nicht allein Eiweifs, Fette, Kohlenhydrate hierbei in Betracht, sondern auch die verschiedensten Spaltungsprodukte dieser Verbindungen, ja sogar eine Reihe von anorganischen Stoffen kann als Nahrungsquelle ausreichend sein. Es gehören sicherlich sehr umfangreiche Untersuchungen dazu, um zunächst einmal diese Frage für die einzelnen Bakterienarten zu klären. Aufserdem darf nicht aufser acht gelassen werden, dafs es sich bei allen diesen Untersuchungen nicht allein um den qualitativen Nachweis bestimmter Stoffe, sondern hauptsächlich um quantitative Messungen handelt. Ferner kommt hinzu, dafs die Arbeitsmethoden noch nicht so ausgebildet sind, dafs sie in jedem Falle verwendet werden können. Man ist vielmehr darauf angewiesen, je nach Art der Untersuchung stets besondere Methoden durch Ausprobieren zu gewinnen.

Unter Berücksichtigung der genannten Schwierigkeiten, dürfte es schwer sein, schon jetzt ein sicheres Urteil über die Erfolge derartiger Untersuchungen abzugeben, zumal solche bisher nur in geringem Umfange nach den eben skizzierten Gesichtspunkten angestellt sind und infolgedessen auch keine bemerkenswerten Ergebnisse zutage fördern konnten. Soviel läfst sich jedoch mit Sicherheit schon jetzt erkennen, dafs, wenn es überhaupt mit den uns zu Gebote stehenden Hilfsmitteln gelingt, in die Stoffwechselvorgänge beim Leben der Mikroorganismen tiefer einzudringen, viele langwierige und recht mühsame Untersuchungen nötig sein werden.

Es mufs als ein grofses Verdienst von Rubner anerkannt werden, dafs er als erster die Gesichtspunkte klargestellt hat, die bei derartigen, den Stoffwechsel der Bakterien betreffenden Untersuchungen in erster Linie zu berücksichtigen sind. In

seiner Abhandlung[1]) »Über den Energieverbrauch im Leben der Mikroorganismen« hebt er hervor, daſs eine Erforschung der allgemeinen Lebensprozesse der einzelligen Organismen, namentlich der Ernährungsverhältnisse, die Grundlage für alle weiteren Studien dieser Art abzugeben hat. In der Ernährung wurzeln alle Lebensäuſserungen, auch die pathogenen Fähigkeiten der Bakterien. Zu dem Verständnis des Ernährungsvorganges verlangt Rubner weiter eine Beobachtungs- und Untersuchungsweise, welche zwischen dem Stoffansatze, dem Wachstum und dem Stoffumsatze, der den labilen Gleichgewichtszustand, das Leben, erhält, unterscheidet. Als dritte grundlegende Bedingung für derartige Untersuchungen wird die Berücksichtigung der die Umsatzleistungen bewirkenden Bakterienmenge gefordert. Es bedarf wohl keiner näheren Erläuterung, daſs diese von Rubner aufgestellten Forderungen bei allen derartigen Arbeiten Beachtung finden müssen, wenn sie Anspruch auf eine Verwendung erheben wollen.

Bei einer Durchmusterung der Literatur findet man eine ganze Reihe von Arbeiten über den Stoffwechsel der Bakterien. Es würde jedoch den Rahmen dieser Veröffentlichung weit überschreiten, wenn über die Methoden und Ergebnisse dieser Versuche berichtet werden sollte, zumal die meisten von ganz anderen Gesichtspunkten, als die hier in Frage kommenden sind, angestellt wurden. Von einem groſsen Teil der Autoren ist beispielsweise der Hauptwert auf die quantitative Feststellung von Stoffwechselprodukten überhaupt gelegt worden, in der Absicht, unter ihnen die Produkte herauszufinden, von welchen die charakteristischen Wirkungen der einzelnen Bakterienarten ausgehen sollen. Im Beginn der bakteriologischen Ära wurden zum Teil nicht einmal Reinkulturen, sondern Bakteriengemische zu derartigen Untersuchungen benutzt. Man kann nach den vorstehenden Auseinandersetzungen den auf diese Weise gefundenen Ergebnissen für die Lösung des zu Anfang skizzierten Problems eine Bedeutung nicht beimessen.

---

1) Archiv f. Hyg. Bd. 48, S. 260.

In den nachstehend berichteten Versuchen habe ich den Stoffwechsel eines bekannten Krankheitserregers des Staphylococcus aureus, zum Gegenstande der Untersuchung gemacht. Es lag nicht in meiner Absicht, alle die Stoffwechselprodukte, welche dieser Mikroorganismus in unseren künstlichen Nährböden bildet, qualitativ und quantitativ zu bestimmen, vielmehr kam es mir darauf an, durch Feststellung des Ablaufes und der Bildungsgröfse eines gewissermafsen als Indikator dienenden Produktes, der Kohlensäure, unter Berücksichtigung der sie produzierenden Bakterienmengen, einen Einblick in die Vorgänge bei dem Wachstum dieses Mikroorganismus zu erhalten. Aufserdem bin ich noch auf die Ammoniakbildung und die Verwertung der stickstoffhaltigen Substanzen der Nährböden eingegangen, soweit es der Rahmen der Versuchsanordnung gestattete.

Derartige Versuche sind mit dem Staphylococcus aureus bisher noch nicht angestellt worden. Zwar berichtet Hesse[1]) in seiner Arbeit über die gasförmigen Stoffwechselprodukte beim Wachstum der Bakterien auch über die Kohlensäureproduktion des Staphylococcus aureus; es handelt sich dabei aber nur um einen sehr kurzen Versuch, der frühzeitig wegen Verunreinigung der Kultur abgebrochen werden mufste. Aufserdem benutzte er eine andere Versuchsanordnung als die, welche in den nachfolgenden Versuchen zur Anwendung kam. Hesse bestimmte die Kohlensäureproduktion und den gleichzeitig stattfindenden Sauerstoffverbrauch von einigen Bakterienarten, die auf festen Nährböden gezüchtet wurden, quantitativ und glaubte, dafs den gefundenen Werten bzw. dieser Methode für die Unterscheidung ähnlicher Bakterien eine grofse Bedeutung zukäme. Da er aber die wirksame Bakteriensubstanz völlig unberücksichtigt liefs, so kann seinen Schlufsfolgerungen nicht ohne weiteres beigestimmt werden.

Gerade die Beziehungen der Stoffwechselprodukte zu der Gröfse der sie bildenden Bakterienmasse sind vielfach bei derartigen Untersuchungen vernachlässigt worden. Erst seitdem Rubner in der oben erwähnten Abhandlung nachdrücklich auf

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 15, S. 17.

ihre Bedeutung für die Beurteilung des Stoffwechsels hingewiesen hat, ist ihnen die gebührende Beachtung geschenkt worden. Ich will hier jedoch nicht unerwähnt lassen, dafs auch aus dem hiesigen Hygienischen Institute zwei Arbeiten hervorgegangen sind, von Burchard[1]) und Haacke[2]), welche diesen Anforderungen genügen.

Als Nährböden kam für die nachstehenden Versuche die allgemein gebräuchliche Peptonfleischwasserbouillon ohne und mit Traubenzuckerzusatz, ferner die von Uschinsky angegebene eiweifsfreie Nährlösung, ebenfalls ohne und mit Traubenzucker, zur Verwendung. Über die sonst noch gewählten besonderen Zusätze ist bei den einzelnen Versuchen das Nähere gesagt.

Die zur Verwendung gelangende Kultur des Staphylococcus aureus war aus Abzefseiter gezüchtet worden und zeigte folgende Wachstumseigenschaften auf den gebräuchlichen Nährböden.

Agar: üppige Pilzrasenentwicklung mit kräftiger Bildung eines goldgelben Farbstoffes.

Gelatinestich: Verflüssigung zuerst im Stichkanal konisch, dann im Bereiche der ganzen Gelatinemasse zylinderisch, von oben nach unten fortschreitend.

Milch: Koagulation nach 3—4 Tagen bei Brutschranktemperatur.

Bouillon: gleichmäfsige Trübung, Bildung eines geringen kleinflockigen Bodensatzes.

Blutserum: üppiges Wachstum, gelbe Färbung des Pilzrasens.

Lakmusmolke: schnell eintretende Säurebildung, Rötung der Molke.

Kartoffel: gelblicher Pilzrasen im Impfstrich.

Im Folgenden gebe ich eine ausführliche Beschreibung der Versuchsanordnung, einmal weil sie für den Ausfall der Ergeb-

---

1) Burchard, Beiträge zur Kenntnis des Ablaufes und der Gröfse der durch Micrococcus ureae liquefaciens bewirkten Harnstoffzersetzung. Arch. f. Hyg., Bd. 36, S. 264.

2) Haacke, Beiträge zur Kenntnis der quantitativen Zersetzung des Milchzuckers durch den Bac. acidi lactici. Arch. f. Hyg. Bd. 42, S. 16.

nisse und eventuelle Nachprüfung von Bedeutung ist, sodann weil es darauf ankommt, im Laufe der Zeit eine Reihe anwendbarer Methoden für diese Untersuchungen auszubilden.

Versuchsanordnung.

Zur Aufnahme der Kulturflüssigkeiten dienten Literkolben, die mit dreifach durchbohrtem Gummistopfen verschlossen waren. Die eine Bohrung nahm ein bis auf den Boden des Gefäfses führendes Glasrohr auf, durch das die Ventilationsluft hindurchgetrieben wurde. In der zweiten befand sich eine gleichfalls bis auf den Boden reichende Glasröhre, deren aufserhalb des Kolbens befindliches Ende umgebogen war und durch das Flüssigkeit aus dem Kolben während des Versuches entnommen werden konnte. Die dritte enthielt eine kürzere, dicht unter dem Gummistopfen endigende Glasröhre, durch welche die im Kolben befindliche Luft den Absorptionsröhren zugeführt wurde. Durch letztere Öffnung geschah auch die Infektion des Kolbens bei dem Ansetzen eines Versuches.

Um die eintretende Luft von Kohlensäure und Ammoniak zu befreien, wurden folgende Vorschaltungen gewählt:

1. ein Absorptionsturm gefüllt mit Bimssteinstückchen, die mit Natronlauge getränkt waren,
2. ein mit schwefelsäuregetränkten Bimssteinstückchen angefüllter Absorptionsturm oder statt dessen eine Flasche mit verdünnter Schwefelsäure,
3. eine Waschflasche mit Barytwasser.

Die aus dem Kolben heraustretende Luft wurde zuerst über konzentrierte, reine, in einem U förmig gebogenen Glasrohre befindliche Schwefelsäure geleitet, um etwaiges in Gasform entweichendes Ammoniak zu binden, und dann durch eine mit Barytwasser gefüllte Pettenkofersche Barytröhre geführt, in der die Kohlensäure absorbiert wurde. Um bei negativem Druck die durch die Kohlensäure der rückwärts eintretenden Luft möglicherweise bedingte Fehlerquelle auszuschalten, wurde an die Pettenkofersche Röhre noch eine Waschflasche mit Barytwasser angeschlossen.

Da einzelne Versuche Wochen, ja Monate hindurch gehen sollten, so mufste ihre Anordnung derart getroffen werden, dafs eine Verunreinigung der Kulturen nach Möglichkeit ausgeschlossen war. Es erscheint daher wohl nicht überflüssig, wenn ich kurz die Methode beschreibe, welche sich mir nach meinen Erfahrungen bei der Anstellung der Versuche- und bei der Entnahme von Kulturflüssigkeit während der Versuche als die beste bewährt hat.

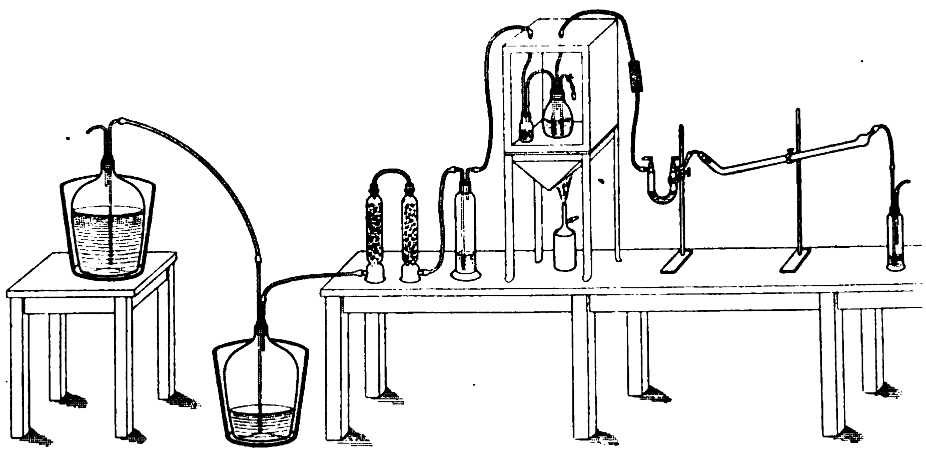


Fig. 1.

Der in der oben angegebenen Weise mit Nährflüssigkeit, Gummistopfen und Glasröhren versehene Literkolben wurde im Dampftopf zusammen mit den die Verbindungen herstellenden Gummischläuchen sterilisiert, nachdem vorher noch der Stopfen durch Bindfaden sicher befestigt war. Nach der Sterilisierung erfolgte die Abdichtung zwischen Kolbenöffnung und Stopfen durch Siegellack und die Infektion mit dem Bakterienmaterial. Um die Verunreinigung des Kolbens durch Keime der Ventilationsluft zu verhüten, wurde diese vor dem Eintritt in denselben noch durch eine Waschflasche mit sterilem Wasser geleitet, die zusammen mit dem Kolben im Brutschrank aufgestellt war. Diese erfüllte gleichzeitig auch den Zweck, die in den Kolben getriebene Luft zu erwärmen und ihr den zur Verhütung einer zu grofsen Verdunstung nötigen Feuchtigkeitsgehalt zu geben. Nachdem der Kolben in dieser Weise im Brutschrank montiert war, wurden die Verbindungen durch Gummischläuche

mit den anfangs erwähnten Vorschaltungen und Absorptionsröhren hergestellt. Zweckmäſsig ist es noch, wenn man nicht eine zweite Waschflasche mit sterilem Wasser zwischen Kolben und Absorptionsröhre einschalten will, ein steriles Wattefilter einzufügen. Eine rückläufige Infektion des Kolbens durch das in den Gummischläuchen kondensierte Wasser ist sonst leicht möglich.

Die Ventilation des Systemes versuchte ich zunächst durch die unter Wasserdruck stehende Luft eines Gasometers. Da jedoch infolge der zahlreichen Flüssigkeitssperren ein verhältnismäſsig hoher Druck zum Durchtreiben der Luft erforderlich war, so reichte der des Gasometers oft nicht aus. Auſserdem bedeutete das häufig notwendig werdende Nachfüllen von Wasser im Laufe von 24 Stunden einen erheblichen Übelstand. Ich nahm daher auf Vorschlag von Herrn Prof. Pfeiffer Glasballons von ungefähr 40 l Inhalt, wie sie zum Versand von Schwefelsäure gebraucht werden. Der hochgestellte mit Wasser gefüllte Ballon wurde durch einen Heber mit dem leeren untenstehenden und an das System angeschlossenen Ballon verbunden. Durch die Vergröſserung oder Verringerung der Höhendifferenz der beiden Ballons lieſs sich eine ausgezeichnete Regulierung des Druckes bewerkstelligen. Auſserdem wurde noch durch eine an den von dem untern Ballon zum System führenden Gummischlauch gelegte Klemmschraube die Schnelligkeit der Ventilation geregelt.

Groſse Aufmerksamkeit erforderte weiterhin die zur Entnahme von Kulturflüssigkeit zu Keimzählungen während des Versuches dienende Vorrichtung, weil hierbei sehr leicht eine Verunreinigung des Kolbeninhaltes herbeigeführt werden konnte. Am besten bewährte sich folgende Einrichtung. Das winkelig gebogene Entnahmerohr des Versuchskolbens wurde mit einem kurzen Gummischlauch versehen, der durch einen Quetschhahn abgeklemmt war und am Ende eine kleine, spitz auslaufende, mit einer Gummikappe verschlossene Glasröhre trug; dieser Entnahmeansatz wurde zusammen mit dem Kolben sterilisiert.

Bei Entnahme von Kulturflüssigkeit aus dem Kolben wurde das System hinter dem Kolben abgesperrt, während die Ventilation in Gang blieb; durch den im Kolben entstehenden Über-

druck konnte nach Öffnung des Quetschhahnes des Entnahmerohres eine beliebig groſse Flüssigkeitsmenge herausgepreſst werden. Vor und nach dieser Manipulation muſste jedesmal das Glasrohr in einer Gasflamme sterilisiert werden. Nach Beendigung der Entnahme erfolgte wieder der Abschluſs durch eine sterile Gummikappe. Mittels dieser Methode gelang es, Wochen hindurch täglich Flüssigkeitsproben zu entnehmen, ohne daſs eine Verunreinigung eintrat. Die beigefügte Skizze gibt ein Bild von den beschriebenen Einrichtungen.

Während der Versuche konnte ständig eine Temperatur von 37° C innegehalten werden, da die Kolben in einem auf diese Temperatur eingestellten Brutschranke untergebracht waren. Eine sich täglich gleichbleibende Lüftung war trotz vieler Mühe nicht zu erreichen. Die Menge der täglich durch die Kolben geschickten Luft, ausgedrückt durch die verbrauchte Wassermenge, schwankte zwischen 10 und 30 l und wurde durch Wiegen der Ballons bei Erneuerung der Wasserfüllung festgestellt. Am häufigsten bewegten sich die Lüftungsgröſsen zwischen 15 und 20 l. Von der Einschaltung einer Gasuhr zur Messung der Ventilation wurde Abstand genommen, weil sie den zu überwindenden Druck zu sehr gesteigert hätte.

Auch die Zeiten zwischen dem Wechseln der Barytröhrenfüllung waren aus äuſseren Gründen nicht immer gleich lang. Sehr selten betrug die Versuchsdauer weniger als 20 Stunden, in der Regel schwankte sie zwischen 22 und 24 Stunden.

Bei der täglichen Entnahme von Kulturflüssigkeit zu Keimzählungen war zu berücksichtigen, daſs eine gewisse Zahl von Kubikzentimetern erst aus dem Entnahmerohr herausgelassen werden muſste, um den Kolbeninhalt selbst verarbeiten zu können. Es wurden daher nach kräftigem Umschütteln und gründlichem Durchmischen der Kulturflüssigkeit je nach der Weite des Glasrohres 10—15 ccm herausgelassen und erst die darauf folgende Flüssigkeitsmenge zu Keimzählungen verwendet. Dieses Verfahren bedingte notwendig eine ständige Abnahme der Nährbodenmenge und damit auch eine begrenzte Versuchsdauer. Die Keimzählungen selbst wurden in der Weise vorgenommen, daſs von der Kulturflüssig-

keit Verdünnungen in steriler physiologischer Kochsalzlösung hergestellt wurden. Je nach dem zu erwartenden Keimgehalt wurden Verdünnungen von 1:100 bis 1:10000 gemacht und davon 0,01, 0,02 und 0,05 ccm in Nährgelatine gebracht und zu Gelatineplatten verarbeitet. Versuchsweise kam auch Nähragar zur Anwendung, da dieses ein schnelleres Wachstum und schnellere Zählung ermöglichte. Doch zeigten die Agarplatten häufig den Übelstand, dafs die einzelnen Kolonien nicht genügend isoliert lagen und so eine genaue Zählung vereitelt wurde. Es wurden daher lediglich nur die von den Gelatineplatten gewonnenen Resultate verwendet.

An die Keimzählung von Kulturen des Staphylococcus aureus bin ich zunächst mit grofsem Bedenken herangetreten, von der Erwägung ausgehend, dafs es infolge seiner Wachstumseigentümlichkeit der Haufenbildung sehr schwer sein würde, einzelne Keime zur Aussaat zu bringen. Es schien die Befürchtung gerechtfertigt, dafs die zur Entwicklung gelangenden Kolonien aus Kokkenhaufen entstanden waren. Fertigt man jedoch von einer kräftig durchgeschüttelten Bouillonkultur des Staphylococcus aureus einen hängenden Tropfen an, so kann man sich davon überzeugen, dafs die Hauptmasse der Kokken sich in gut verteiltem Zustande befindet. Alle Häufchen wird man nie beseitigen können; mit dieser Fehlerquelle ist daher stets zu rechnen. Für die Beurteilung der Ergebnisse der fortlaufenden Keimzählungen kommt es meiner Ansicht nach hauptsächlich darauf an, dafs man mit pedantischer Gleichmäfsigkeit die einzelnen Aussaaten herstellt. Nur auf diese Weise lassen sich exakte Vergleichungswerte gewinnen. Betrachtet man aufserdem die auf den Gelatineplatten zur Entwicklung gelangenden Kolonien, so fällt die Gleichmäfsigkeit ihrer Gröfse auf, ein Umstand der auf die Gleichmäfsigkeit der Aussaaten einen Rückschufs gestattet.

In die Pettenkoferschen Röhren wurden 200 ccm Barytwasser gefüllt, dessen Titre vorher festgestellt worden war. Die Rücktitrierung geschah mittels $^1/_4$ n-Salzsäure.

Die beiden ersten Versuche stellten Parallelversuche dar. Eine fortlaufende Zählung der wirksamen fortzüchtungsfähigen

Keime wurde nicht vorgenommen, da die dadurch entstehenden bedeutenden Verluste des Nährbodens vermieden werden sollten, um zunächst einen Überblick über den Ablauf und die Gröſse der Kohlensäureproduktion zu gewinnen. Die in bestimmten Zeiträumen entnommenen Flüssigkeitsmengen dienten zur Feststellung der Reinheit der Kulturflüssigkeit. Gleichzeitig wurde auch eine Keimzählung damit verbunden.

In Spalte 1 ist die gemessene Menge der Kohlensäure in mg verzeichnet, in Spalte 2 ist diese Zahl auf die nach der Versuchszeit sich ergebende Höhe der Produktion in 24 Stunden reduziert, und Spalte 3 enthält die Reduktion auf eine gleichmäſsige Durchlüftung, die der von 10 l Wasser verdrängten Luft entspricht. In Spalte 4 sind die auf 1 ccm berechneten Keimzahlen und in Spalte 5 die entnommenen Flüssigkeitsmengen angegeben.

Die zu den beiden Versuchen verwendete Nährbouillon hatte die gleiche Zusammensetzung. Temperatur des Brutschrankes und die Stärke der Barytlösung stimmten ebenfalls überein, sodaſs die Resultate eine Vergleichung ohne besondere Berücksichtigung von Fehlerquellen erlauben.

Die Menge der bei Versuch I eingesäten Keime wurde nicht bestimmt. Schätzungsweise läſst sich jedoch annehmen, daſs sie etwas niedriger als bei Versuch II gewesen sein muſs.

Versuch I.

700 ccm Fleischwasserpeptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion.

Versuchstage	1. Menge der gebildeten Kohlensäure in mg	2. Kohlensäuremenge in 24 Std. nach der stündlich. Produktion berechnet in mg	3. Kohlensäuremenge wie nebenstehend auf 10 l Lüftung berechnet in mg	4. Keimzahl in 1 ccm	5. Entnommene Flüssigkeitsmenge in ccm
1	46,2	36,84	16,28		
2	63,8	65,824	23,144		
3	125,4	158,4	61,16		
4	140,8	144,726	44,0		
5	123,2	126,896	49,72		
6	103,4	106,48	36,96		
7	55,0	58,96	19,6	2 108 000 000	17,5
8	68,2	68,2	23,76		

Fortsetzung von Versuch I.

Versuchstage	1. Menge der gebildeten Kohlensäure in mg	2. Kohlensäuremenge in 24 Std. nach der stündlich. Produktion berechnet in mg	3. Kohlensäuremenge wie nebenstehend auf 10 l Lüftung berechnet in mg	4. Keimzahl in 1 ccm	5. Entnommene Flüssigkeitsmenge in ccm
9	97,43	100,32	36,245		
10	113,3	106,688	39,156		
11	154,08	158,664	108,768		
12	163,15	168,036	119,644		
13	235,66	232,712	108,768		
14	224,23	241,384	82,48	111 000 000	18,5
15	167,68	147,4	67,073		
16	199,4	214,58	92,54		
17	92,9	95,7	148,64		
18	131,42	142,604	107,04		
19	131,42	142,604	107,04		
20	141,62	145,86	127,25		
21	141,62	145,86	127,25		
22	145,02	149,11	141,85	1 354 000 000	16,0
23	169,95	175,07	91,99		
24	131,42	135,34	69,79		
25	77,04	79,35	87,92		
26	129,16	133,51	50,3		
27	133,69	133,67	78,85		
28	92,9	96,93	83,62		
29	97,43	119,896	119,91		
30	142,75	146,82	81,41		
31	101,97	111,18	83,62		
32	127,51	121,82	60,08		
33	120,09	128,656	51,19		
34	154,08	151,23	52,33		
35	47,58	56,23	58,47		
36	104,23	107,36	60,27		
37	92,9	95,71	57,1		
38	88,37	91,032	54,83		
39	81,57	84,02	53,93		
40	67,98	70,004	34,88		
41	90,64	93,35	40,33		
42	49,05	44,32	41,69		
43	47,58	50,82	40,44		
44	108,76	93,14	63,9		
45	24,92	30,81	35,34	95 430 000	20,0
46	31,72	32,516	30,81		
47	40,78	42,01	35,8		

Fortsetzung von Versuch I.

Versuchstage	1. Menge der gebildeten Kohlensäure in mg	2. Kohlensäuremenge in 24 Std. nach der stündlich. Produktion berechnet in mg	3. Kohlensäuremenge wie nebenstehend auf 10 l Lüftung berechnet in mg	4. Keimzahl in 1 ccm	5. Entnommene Flüssigkeitsmenge in ccm
48	67,91	65,69	35,8		
49	63,44	66,17	33,53		
50	45,32	46,12	27,41		
51	45,32	46,67	31,72		
52	36,25	37,312	24,47		
53	33,99	35,004	27,17		
54	31,72	32,73	22,7		
55	24,92	24,9	19,25		
56	31,72	32,6	19,35		
57	29,45	30,23	20,85		21,5
58	36,25	37,07	20,85		
59	22,66	23,25	20,39		
60	38,52	32,94	18,72		
61	9,06	11,96	18,58		
62	36,25	37,8	19,94		
63	27,19	27,92	17,22		
64	20,39	22,33	17,22		
65	12,43	10,33	10,33		
66	15,68	17,95	13,59		
67	31,72	31,72	14,96		
68	12,43	12,15	13,46		
69	16,99	18,4	14,6		
70	16,99	18,4	14,6		
71	22,66	23,57	23,57		
72	12,43	12,15	20,21		
73	12,43	15,0	17,4		
74	12,43	12,15	11,55	1 300 000	22,0

Versuch II.

700 ccm Fleischwasserpeptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion.

1	81,4	81,268	33,79	Einsaat 14 425	15,5
2	156,2	101,832	72,16	1 155 250 000	15,5
3	118,8	150,84	144,24		
4	202,4	208,91	90,2		
5	180,4	185,81	98,56		
6	147,4	151,8	101,64		
7	145,2	155,01	87,4	13 301 000 000	15,5

Fortsetzung von Versuch II.

Versuchstage	1. Menge der gebildeten Kohlensäure in mg	2. Kohlensäuremenge in 24 Std. nach der stündlich. Produktion berechnet in mg	3. Kohlensäuremenge wie nebenstehend auf 10 l Lüftung berechnet in mg	4. Keimzahl in 1 ccm	5. Entnommene Flüssigkeitsmenge in ccm
8	136,4	136,4	58,52		
9	151,82	156,328	88,82		
10	117,83	121,36	73,87		
11	151,82	156,32	111,48		
12	147,29	151,71	101,06		
13	135,96	133,8	78,85		
14	181,28	186,3	90,64	217 000 000	19,0
15	172,21	151,4	92,9		
16	151,82	178,17	93,34		
17	151,82	156,32	100,51		
18	138,22	149,76	110,11		
19	138,22	149,76	110,11		
20	155,22	159,85	93,36		
21	155,22	159,85	93,86		
22	138,22	190,3	75,29	810 500 000	16,5
23	129,16	130,68	62,54		
24	106,5	109,71	56,65		
25	70,24	72,29	58,91		
26	147,29	151,712	104,23		
27	111,03	112,8	54,88		
28	106,5	111,1	53,93		
29	77,04	95,8	100,61		
30	101,97	105,02	55,74		
31	86,1	93,94	58,01		
32	95,1	93,5	50,75		
33	113,3	118,6	59,82		
34	101,97	100,11	54,30		
35	49,05	50,89	48,94		
36	88,37	91,03	53,93		
37	127,51	130,68	53,47		
38	90,64	93,35	51,21		
39	113,3	116,68	46,22		
40	99,7	102,69	45,32		
41	104,36	112,02	46,22		
42	49,05	44,32	41,69		
43	77,04	82,32	51,21		
44	56,65	48,53	21,8		
45	90,64	112,11	58,01	18 866 000	20,0
46	40,78	41,83	33,08		
47	49,8	51,34	43,5		

Fortsetzung von Versuch II.

Versuchstage	1. Menge der gebildeten Kohlensäure in mg	2. Kohlensäuremenge in 24 Std. nach der stündlich. Produktion berechnet in mg	3. Kohlensäuremenge wie nebenstehend auf 10 l Lüftung berechnet in mg	4. Keimzahl in 1 ccm	5. Entnommene Flüssigkeitsmenge in ccm
48	58,9	58,91	43,5		
49	111,03	111,1	57,93		
50	49,05	46,12	43,05		
51	54,3	50,3	56,01		
52	72,5	51,65	51,84		
53	70,24	49,85	50,66		
54	54,3	48,84	49,2		
55	47,5	40,3	47,58		
56	49,8	43,95	51,3		
57	36,25	37,3	40,97		
58	86,1	87,92	43,51		
59	58,9	59,82	40,33		21,0
60	52,11	44,59	22,18		
61	36,25	47,86	43,51		
62	56,65	57,56	30,36		
63	40,78	41,33	20,39		
64	52,11	53,93	28,57		
65	13,59	11,96	11,24		
66	15,86	17,4	14,5		
67	36,25	36,25	13,78		
68	13,59	14,55	17,09		
69	23,79	25,77	27,6		
70	23,79	25,77	27,6		
71	33,99	35,44	17,72		
72	9,06	9,3	17,49		
73	11,83	15,0	16,27		
74	11,33	12,15	9,34	1 400 000	23,0

Die aufgeführten Zahlen geben in dieser Anordnung kein übersichtliches Bild von dem Ablauf der Kohlensäureproduktion. Ich habe die einzelnen Tageswerte daher in Form von Kurven zusammengestellt (vgl. Figur 1 und 2).

Die in Spalte 1 eingetragenen Zahlen zeigen Differenzen, die zum Teil durch die verschiedene Dauer der Versuchszeit bedingt sind. Wie schon bei der Beschreibung der Versuchsanordnung erwähnt wurde, konnte aus äufseren Gründen nicht

immer die Beobachtungszeit von 25 Stunden innegehalten werden. Ich habe deswegen von der Aufzeichnung dieser Kurve Abstand genommen. Die Werte der Spalte 2 sind dagegen nach der stündlichen Leistung auf die Einheit von 24 Stunden umgerechnet und graphisch dargestellt, ebenso die von Spalte 3 unter Berücksichtigung der Durchlüftungsgröfsen.

Betrachtet man nun den in Form von Kurven dargestellten Ablauf der Kohlensäureproduktion, so findet man ein wesentlich anderes Bild, als man theoretisch erwarten sollte. Wenn man von der Annahme ausgeht, dafs die Oxydation des Kohlenstoffes zu CO_2 einen Indikator für die Arbeitsleistung der Mikrokokken darstellt, wobei unerörtert bleiben mag, wieviel auf den Ansatz, das Wachstum oder die Erhaltung des Stoffwechselgleichgewichtes zu beziehen ist, so sollte man erwarten, dafs die Kurve einen gleichmäfsigen Anstieg, vielleicht ein Verweilen auf einem gewissen Gipfel und einen gleichmäfsigen Abstieg zeigen würde. Das Ergebnis von beiden Versuchen bietet jedoch ein ganz anderes Bild dar. Bei dem Versuche, derartige Kurven zu deuten, ist es jedoch notwendig, zunächst die Gesichtspunkte klarzulegen, von denen aus sie zu beurteilen sind. Folgende Fragen würden zu erörtern sein:

1. Wie gestaltet sich die Kohlensäureproduktion bei den beiden Versuchen im allgemeinen?
2. Lassen sich vielleicht einzelne Perioden unterscheiden, die Rückschlüsse auf eine besondere Form des Ablaufes der Bakterientätigkeit gestatten?
3. Ergeben sich Anhaltspunkte dafür, dafs die Durchlüftungsgröfse eine wesentliche Rolle spielt?
4. Welche Ergebnisse lassen sich aus der Vergleichung der Kurven beider Versuche ziehen?

I. Die Betrachtung der die Werte von Spalte 2 enthaltenden Kurve von Versuch I läfst ganz erhebliche Schwankungen der 24 stündigen Kohlensäureproduktion erkennen. Dieselben erstrecken sich, allerdings mit einem allmählichen Sinken der CO_2 Mengen verbunden, bis zum 50. Versuchstage. Erst von

da ab verlieren sich die Differenzen, bzw. werden klein. Der Höhepunkt der Arbeitsleistung wird am 14. Versuchstage erreicht; von diesem Zeitpunkte ab setzt die langsam sinkende Abnahme der Arbeitsleistung ein.

Die Kurve von Spalte 3 des Versuches I zeigt, dafs infolge der Berücksichtigung der Durchlüftung die täglichen Schwankungen zwar etwas verringert, jedoch nicht ganz ausgeschaltet werden. Der Höhepunkt der Kohlensäureentwicklung fällt statt auf den 14. auf den 17. Versuchstag. Die grofsen Tagesdifferenzen hören bereits am 32. Tage auf, die Kurve verläuft langsam abfallend bis zum Schlusse des Versuches fort, nur am 44. Tage noch von einem verhältnismäfsig kleinen Anstiege unterbrochen. Im allgemeinen kann man sagen, dafs dieser Kurve eine gröfsere Regelmäfsigkeit eigen ist.

Die Kurve von Spalte 2 von Versuch II zeigt keine völlige Übereinstimmung mit der entsprechenden von Versuch I, sondern nur eine gewisse Ähnlichkeit. Die täglichen Schwankungen sind namentlich zu Beginn des Versuches nicht so grofs wie bei I. Auch bei diesem Versuche hören die grofsen Differenzen mit dem 50. Versuchstage auf und werden am Ende des Versuches kleiner. Der Höhepunkt der Kohlensäureproduktion fällt schon auf den 4. Tag. Bis zum 22. Tage halten sich die Werte mit geringeren Tageschwankungen als bei Versuch I auf einer gewissen Höhe. In der Zeit vom 35. bis 50. Tage werden die Differenzen erheblicher und auch die Tagesschwankungen verhältnismäfsig gröfser. Auch der Schlufs des Versuches ist im Gegensatze zu dem bei I in der Zeit vom 57. bis 65. Tage durch eine stärkere Schwankung unterbrochen. Die Kurve von Spalte 3 ergibt eine ähnliche Abschwächung der Differenzen, wie sie bei derjenigen im I. Versuch zutage getreten ist. Die gröfseren Schwankungen im Beginne des Versuches reichen wie bei I bis zum 30. Tage — von da ab fällt die Kurve allmählich und gleichmäfsig ab, nur am 44. und 45. Tage und am 60. und 61. Tage zeigen sich noch kleine Schwankungen. Letztere fehlt bei Versuch I. Der Höhepunkt der Kohlensäureproduktion rückt von dem 4. auf den 3. Tag.

II. Als bei der Ausführung der Versuche die Tagesschwankungen im Gegensatze zu den theoretischen Erwartungen beobachtet wurden, da lag der Gedanke nahe, daſs diese Differenzen vielleicht in einem Zusammenhange mit der Bakterienentwicklung stehen könnten. Unsere Kenntnisse über den Lebensgang der einzelnen Bakterienzelle sind äuſserst mangelhaft. Es ist bis jetzt nichts Sicheres darüber bekannt, ob bei der Züchtung der Mikroorganismen auf unseren künstlichen Nährmedien das Wachstum der Bakterienmasse in Zeitabschnitten verläuft, die je einen Anstieg und Abstieg der Bakterienzahlen erkennen lassen. Wenn tatsächlich derartige Wachstumsperioden vorkommen, dann müſsten sie auch an der CO_2-Produktion nachweisbar sein. Allerdings ist dabei die Voraussetzung zu machen, daſs die CO_2-Bildung in innigster Beziehung zum Wachstum steht. Man würde ferner auch wohl eine gewisse Regelmäſsigkeit in bezug auf Länge der Perioden, Gleichmäſsigkeit des An- und Abstieges innerhalb derselben erwarten können. Versucht man die Einteilung der Kurven von diesem Gesichtspunkte aus, so ergibt sich folgendes:

Versuch I. Kurve von Spalte 2.

I.	Periode	1.—7. Tag	= 7 Tage
II.	›	8.—17. ›	= mit einer starken Schwankung vom 14.—16. Tage = 10 Tage
III.	›	18.—25. ›	= 8 Tage
IV.	›	26.—35. ›	= mit verschiedenen geringeren Schwankungen = 10 Tage
V.	›	36.—45. ›	= ebenfalls Zwischenschwankungen = 10 Tage
VI.	›	46.—55. ›	= 10 Tage
VII.	›	56.—74. ›	= unregelmäſsiger Verlauf.

Wenn sich auch die ersten 6 Perioden durch den tiefen Abfall der CO_2-Bildung kennzeichnen, so fehlt jedoch sowohl eine Gleichmäſsigkeit im Anstieg, wie auch eine solche im Abstieg. Auſserdem lassen sich die einzelnen Schwankungen innerhalb der Perioden schwer deuten.

Ebenso schwierig gestalten sich die Abgrenzungen bei der

Kurve von Spalte 3.

I.	Periode	1.—7. Tag	= 7 Tage	
II.	»	8.—15. »	= 8 »	
III.	»	16.—26. »	= 11 »	
IV.	»	27.—33. »	= 7 »	
V.	»	34.—74. »	= unregelmäfsiger Verlauf.	

Versuch II. Kurve von Spalte 2.

I.	Periode	1.—10. Tag	= 10 Tage	
II.	»	11.—24. »	= 14 »	
III.	»	25.—35. »	= 11 »	
IV.	»	36.—42. »	= 7 »	
V.	»	43.—46. »	= 4 »	
VI.	»	47.—50. »	= 4 »	
VII.	»	51.—57. »	= 7 »	
VIII.	»	58.—65. »	= 8 »	(fehlen eines Anstiegs)
IX.	»	66.—72. »	= 7 »	

Kurve von Spalte 3.

I.	Periode	1.—8. Tag	= 8 Tage	
II.	»	9.—13. »	= 5 »	
III.	»	14.—24. »	= 11 »	
IV.	»	25.—27. »	= 3 »	
V.	»	28.—30. »	= 3 »	
VI.	»	31.—42. »	= 12 »	
VII.	»	43.—44. »	= 2 »	(Ruhestadium)
VIII.	»	45.—46. »	= 2 »	
IX.	»	47.—74. »	Periodenbildung nicht deutlich.	

Die Vergleichung dieser Zahlen ergibt, dafs sich die Tagesmengen der CO_2-Bildung auf Grund dieser beiden Versuche nicht so gruppieren lassen, dafs man von einer Gesetzmäfsigkeit im Ablauf nach Perioden sprechen kann, wenn letztere in dem oben angegebenen Sinne aufgefafst werden. Es ist weder eine Gleichmäfsigkeit innerhalb der einzelnen Versuche noch auch eine Übereinstimmung der Gruppenzahlen der beiden Versuche vorhanden. Am meisten nähert sich noch die Kurve 1 bei Versuch I den Anforderungen.

Wenn es nun auch nicht möglich ist, bei den einzelnen Kurven graphisch übereinstimmende Perioden abzugrenzen, die gewissermafsen die Wachstumsvorgänge der Mikroorganismen

versinnbildlichen, so lassen sich doch die verschiedenen Tagesschwankungen der CO_2-Bildung in einer Form gruppieren, daſs eine regelmäſsig verlaufende Kurve entsteht. Das Aussehen der Kurven und die oben angeführten Gruppenzahlen lassen erkennen, daſs für ihre Darstellung eine Zusammenfassung der Werte von 7 bis 10 Tagen zu je einem Abschnitte notwendig ist. Stellt man z. B. die Werte von je 10 Tagen zu einer Periode zusammen und berechnet daraus die tägliche Durchschnittsproduktion, so ergibt sich eine Gesamtkurve, die ein völlig gleichmäſsiges Bild erkennen läſst.

Die entstehenden Werte sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

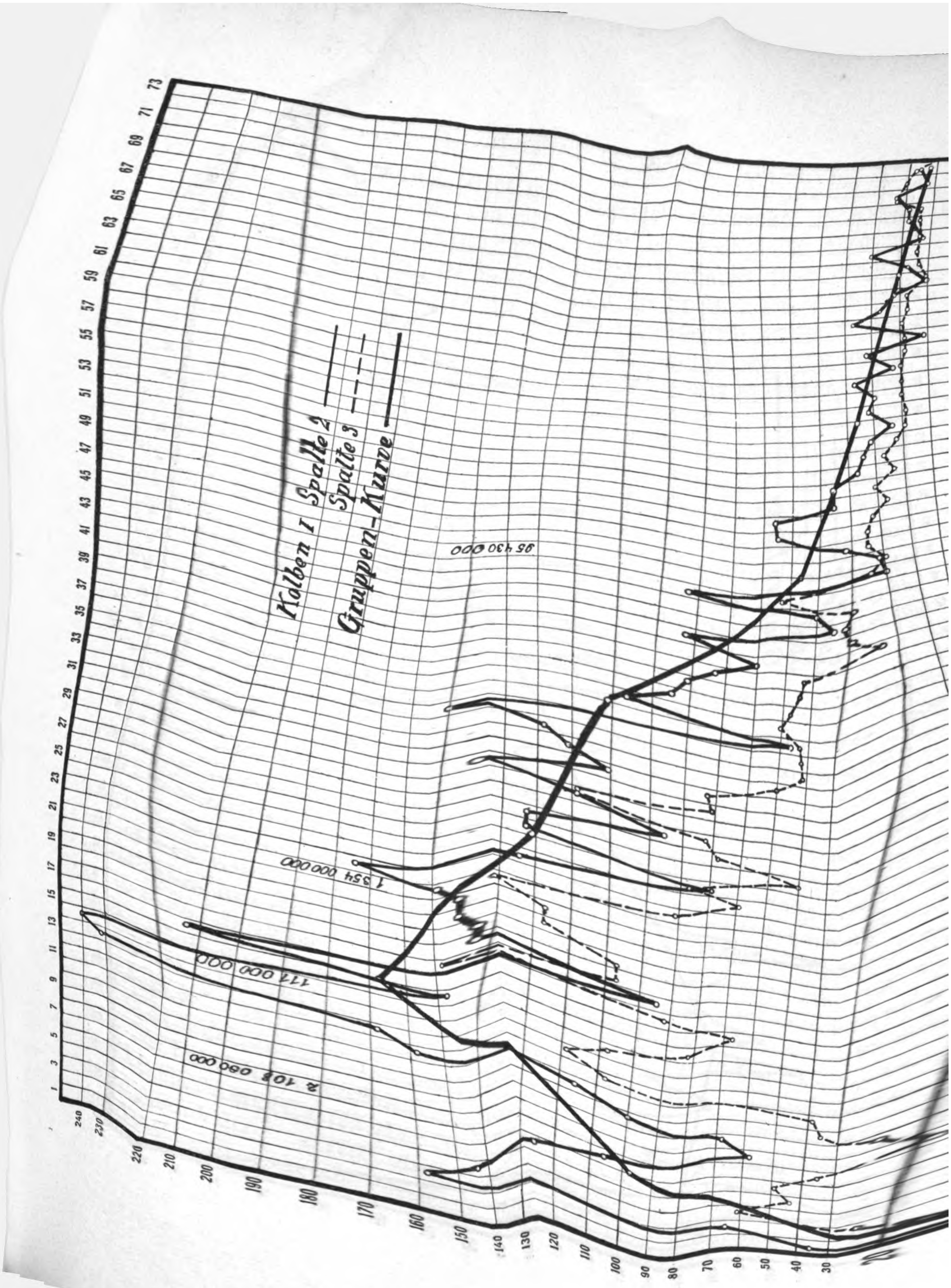
Die täglichen Durchschnittswerte der zehntägigen Gruppen von Spalte 2 finden sich gleichfalls auf Figur I und II in Gestalt von Kurven aufgezeichnet.

Versuch I.

Spalte 1	täglicher Durchschnitt	Spalte 2	täglicher Durchschnitt	Spalte 3	täglicher Durchschnitt
936,78	93,67	983,324	98,3324	350,025	35,0065
1641,56	164,156	1689,544	168,954	1069,24	106,924
1260,98	126,098	1315,556	131,555	941,89	94,189
986,28	98,628	1017,242	101,724	560,56	56,056
570,12	57,012	564,946	56,494	385,05	38,505
330,8	33,08	332,706	33,270	225,47	22,547
199.13	19,913	208,46	20,846	154,50	15,45
59,95	16,99	62,87	12,571	72,73	18,18

Versuch II.

Spalte 1	täglicher Durchschnitt	Spalte 2	täglicher Durchschnitt	Spalte 3	täglicher Durchschnitt
1437,85	143,785	1509,558	150,955	849,2	84,92
1523,86	152,386	1568,39	156,839	982,36	98,236
1143,17	114,817	1239,262	123,926	715,64	71,564
965,04	96,504	991,47	99,147	522,05	52,20
687,3	68,73	708,6	70,86	439,49	43,949
582,01	58,20	514,52	51,452	453,58	45,358
312,66	31,266	332,88	33,288	229,64	22,964
65,71	16,427	71,89	17,972	60,82	15,205


Kolben I Spalte 2
Spalte 3
Gruppen-Kurve
95 430 000
1 354 000 000
111 000 000
2 108 060 000

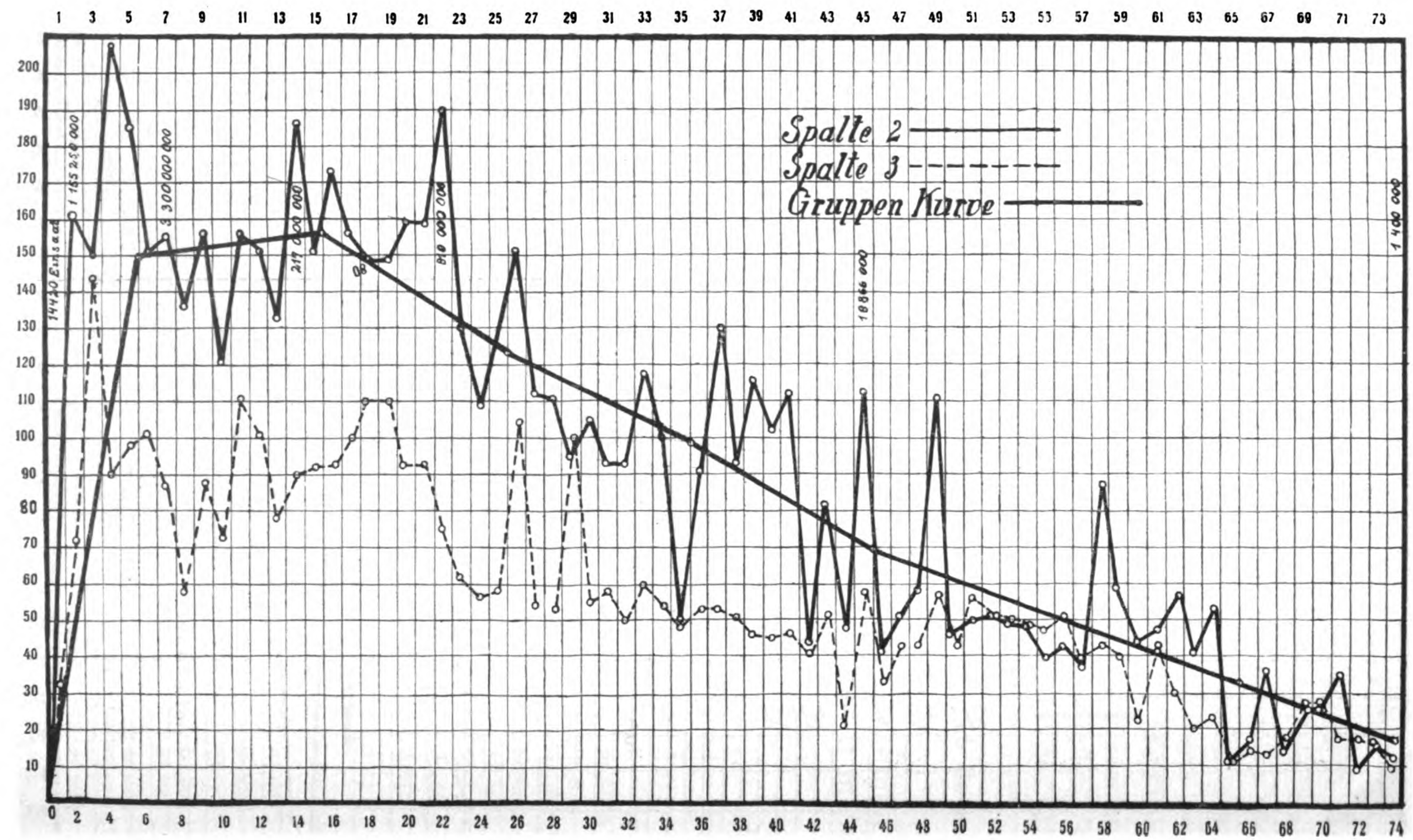

Spalte 2
Spalte 3
Gruppen Kurve
14420 Einsaat
1 155 250 000
3 300 000 000
217 000 000
810 000 000
18866 000
1 400 000

Fig. 2.

Bei Versuch I reicht der aufsteigende Schenkel der Kurve bis zur 2. Gruppe; von der dritten ab beginnt der Abfall in ziemlich gleichmäßiger Form. Dieses Verhalten findet sich bei den Werten aller drei Spalten. Nur die Spalte 3 macht insofern eine Ausnahme, als in der letzten Gruppe ein kleiner Anstieg bemerkbar wird. Da jedoch in dieser Gruppe nur 4 Tageswerte zusammengefügt werden konnten, so ist dieser Abweichung keine besondere Bedeutung beizumessen.

Ein ähnliches Verhalten läßt die Kurve des II. Versuches erkennen. Der aufsteigende Schenkel umfaßt die beiden ersten Gruppen, der absteigende die übrigen sechs. Auch die Werte der Spalte 1 sind diesem Ablaufe entsprechend. Diejenigen von Spalte 3 verhalten sich bis zur 5. Gruppe ebenso, in der 6. Gruppe kommt jedoch wiederum ein geringer Anstieg zum Ausdruck. Die letzte Gruppe enthält nur 4 Werte zusammengefaßt und die entsprechenden täglichen Durchschnittszahlen.

Durch eine derartige Zusammenstellung der Werte in Gruppen zu 10 Tagen lassen sich also bei beiden Versuchen Kurven gewinnen, die einen kürzeren aufsteigenden und einen längeren abfallenden Schenkel aufweisen.

II. Es fragt sich nun, ob der Luftmenge, die den Versuchskolben durch die Lüftung zugeführt wurde, eine Bedeutung auf die Gestaltung der Kurven zukommt. Zur Beantwortung dieser Frage wäre es eigentlich notwendig gewesen, überhaupt erst einmal die Kohlensäureproduktion bei fehlender Durchlüftung festzustellen, um die Werte zur Vergleichung heranziehen zu können. Es wäre denkbar, daß bei reichlicher Zufuhr von Luft bzw. Sauerstoff ein besseres Wachstum der Staphylokokken und eine leichtere Oxydation des Kohlenstoffes zu CO_2 erfolgt als bei geringerer. Was den Einfluß des Sauerstoffes im allgemeinen auf das Wachstum des Staphylokokkus anbetrifft, so ist bekannt, daß er bei Sauerstoffanwesenheit besser gedeiht als bei anaerober Züchtung. Auch aus den Versuchen von Hesse, der die Kohlensäureproduktion und den Sauerstoffverbrauch in Beziehung zueinander setzte, geht hervor, daß tatsächlich eine gewisse Menge

Sauerstoff bei der Lebenstätigkeit der aeroben Bakterien verbraucht wurde.

Um die Kohlensäureproduktion ohne Durchlüftung festzustellen, fehlte mir das Instrumentarium; ich mufste deswegen davon Abstand nehmen, abgesehen davon, dafs dadurch die ohnehin schon sehr langwierigen Versuche noch weiter ausgedehnt worden wären. Aber auch schon aus einer Vergleichung der Kurven von Spalte 2 der Versuche mit den gemessenen Durchlüftungsgröfsen, müssen sich Anhaltspunkte für die Bedeutung der gröfseren oder geringeren Sauerstoffzufuhr ergeben.

Bei Versuch I waren die Lüftungsgröfsen in den ersten 10 Tagen (Gruppe 1) 29,1; 28,4; 25,6; 33,0; 27,7; 28,9; 28,2; 28,8; 28,9; 28,9; 29,7 l.

Trotzdem findet sich am 3. Tage ein Anstieg auf 158,4 mg CO_2, ein Abfall am 7. Tage auf 58,96 und ein nochmaliger Anstieg auf 116,684 mg CO_2. Eine weitere Vergleichung der Zahlen ergibt, dafs an einzelnen Tagen zwar Abfall der Kohlensäureproduktion und Abnahme der Lüftungsgröfse zusammenfallen, in den meisten Fällen jedoch ist das Gegenteil oder doch keine zahlenmäfsige Beziehung zwischen beiden Gröfsen vorhanden.

Dieselbe Erscheinung läfst sich durchweg auch bei Versuch II verfolgen. An einzelnen Tagen besteht scheinbar eine deutliche Übereinstimmung in den Anstiegen und Abnahmen, an anderen tritt gerade das Gegenteil hervor. Eine durchgehende Gesetzmäfsigkeit ist nirgends erkennbar. Man ist wohl zu der Annahme berechtigt, dafs die durch die verschiedenen Lüftungsgröfsen bedingten Unterschiede in der Sauerstoffmenge keinen wesentlichen Einflufs auf die Oxydation des Kohlenstoffes und auf die Lebensäufserungen der Staphylokokken ausüben. Selbst bei der geringsten Lüftungsgröfse ist immer eine für ein üppiges Bakterienwachstum ausreichende Sauerstoffmenge vorhanden, eine Tatsache, die durch die Erfahrungen bei der Kultivierung der Staphylokokken in Kolben, die mit festen Wattestopfen verschlossen sind und infolgedessen nur einen geringen Luftwechsel haben können, bestätigt wird. Die Feststellung des möglichen

Einflusses der Durchlüftung war wegen der Berücksichtigung in den späteren Versuchen von Bedeutung.

IV. Vergleicht man die in den Kurven dargestellten CO_2-mengen von Spalte 2 und die Verteilung derselben in beiden Versuchen, so sollte man erwarten, daſs das Bild, wenn nicht gleich, so doch sehr ähnlich ausfallen würde. Wie anfangs erwähnt worden ist, waren die Versuchsbedingungen derart gewählt, daſs die gröſstmöglichste Gleichmäſsigkeit gewährleistet wurde; gleiche Zusammensetzung des Nährbodens, gleiche Temperaturverhältnisse, gleiche Lösungen zum Nachweis der CO_2-mengen und trotzdem voneinander im einzelnen abweichende Kurven. Betrachtet man die Kurven der beiden Versuche nach dem Aussehen des graphischen Bildes, so zeigt die Kurve des Versuches I bis zum 30. Tage wesentlich stärkere Remissionen als die von Versuch II. Vom 30. bis 50. Tage überwiegen bei Versuch II die starken Schwankungen der Tageswerte; auch vom 50. Tage ab ist die Ungleichmäſsigkeit bei Versuch II ebenfalls gröſser als bei Versuch I.

Weitere bemerkenswerte Unterschiede zwischen den Versuchskurven bieten die Höhepunkte der Kohlensäureentwicklung. In Versuch I wird der Höhepunkt erst nach einem starken vorhergehenden Abfall am 14. Tage erreicht. In Versuch II ist die Höchstleistung bereits am 4. Tage vorhanden. Diese Kurve hält sich dann allerdings bis zum 22. Tage ohne bedeutendere Schwankungen auf einer gewissen Höhe, im Gegensatze zu Versuch I. Während bei Versuch I vom 50. Tage ab ein durch geringe Schwankungen und gleichmäſsigen Abfall sich kennzeichnendes Endstadium eintritt, zeigt Versuch II namentlich vom 57. bis 65. Tage noch erhebliche Differenzen der Tageswerte. Wollte man nach diesen Versuchskurven ein Bild von der Lebenstätigkeit der Mikroorganismen entwerfen, so müſste man sagen, daſs Versuch I eine langsame Entfaltung der Arbeitsleistung bis zum Höhepunkt und ein schnelleres Abfallen bis zur Erschöpfung der Lebensenergie zeigt. Versuch II lieſse dagegen ein schnelles Aufschnellen der Arbeitsleistung, ein geringes Schwanken um eine gewisse Höhe der Leistung und ein allmähliches Absinken bis zur Erschöpfung

erkennen. Es sind dieses Unterschiede, die in vieler Beziehung bemerkenswert sind.

Schaltet man die infolge der Tagesschwankungen gegebenen Differenzen durch Zusammenfassung in zehntägige Gruppen aus, so findet man eine wesentlich bessere Übereinstimmung der Versuchskurven. Zunächst zeigen beide einen gleich langen Anstieg bis zur Höhe der CO_2-Bildung und einen gleichmäſsigen Abfall. Die Kurven sind in der äuſseren Form ihres Ablaufes einander ähnlich. Vergleicht man aber die zwischen den einzelnen Gruppen bestehenden Differenzen, so fällt auch jetzt wieder auf, daſs Versuch I eine steilere Kurve als Versuch II besitzt, entsprechend dem oben skizzierten Bilde.

Nachstehende Übersicht enthält die beweisenden Zahlenwerte. Es sind die Gruppendifferenzen von den durchschnittlichen Tageswerten angeführt.

Gruppen	Versuch I		Versuch II	
	Spalte 1	Spalte 2	Spalte 1	Spalte 2
	mg	mg	mg	mg
I. } II.	+ 70,486	+ 69,7216	+ 8,601	+ 5,884
II. } III.	— 37,176	— 36,492	— 38,969	— 32,913
III. } IV.	— 28,354	— 29,831	— 17,813	— 24,779
IV. } V.	— 41,616	— 45,23	— 27,774	— 28,287
V. } VI.	— 23,922	— 23,22	— 10,53	— 19,408
VI. } VII.	— 13,167	— 15,424	— 26,54	— 18,214
VII. } VIII.	— 2,925	— 8,275	— 5,233	— 15,266

+ bedeutet Anstieg.
— bedeutet Abfall.

Einen weiteren Belag für die Verschiedenheit der Versuchskurven erhält man noch, wenn beispielsweise nur je sieben Tage zu einer Gruppe zusammengefaſst werden. Während bei Ver-

such I auch bei dieser Behandlung eine regelmäfsig verlaufende Kurve mit gleichmäfsigem Anstieg und Abfall entsteht, zeigen die Zahlen von Versuch II im aufsteigenden Schenkel je eine (II. Gruppe) und im abfallenden Schenkel (2. Spalte) zwei Schwankungen (VI. und IX. Gruppe), wie sich aus nachstehender Zusammenstellung ersehen läfst. Es sind in der Tabelle die durchschnittlichen Tageswerte der siebentägigen Gruppen aufgeführt.

Gruppen	Versuch I		Versuch II	
	Spalte 1	Spalte 2	Spalte 1	Spalte 2
I.	93,97	99,78	147,4	156,498
II.	150,86	155,157	146,05	148,889
III.	143,72	147,812	151,818	157,16
IV.	125,59	128,99	115,56	125,513
V.	113,06	119,404	89,218	93,979
VI.	82,05	83,685	96,132	98,683
VII.	55,01	54,45	69,262	72,306
VIII.	35,60	36,76	56,812	47,287
IX.	28,48	28,667	52,434	53,781
X.	18,09	18,75	25,568	26,52
XI.	16,99	12,554	16,427	17,972

Aus diesen Erörterungen ergibt sich die Tatsache, dafs zwei unter den gleichen Bedingungen mit derselben Bakterienart angestellte Versuche doch einen wesentlichen Unterschied in dem Ablauf der täglichen Bildung eines Stoffwechselproduktes, in diesem Falle der Kohlensäure, zeigen können. Es fragt sich nun, ob sich ausreichende Gründe für diese beachtenswerte Erscheinung finden lassen. Zunächst ist festzustellen, wie auch schon anfangs erwähnt wurde, dafs die Bakterienaussaat bei Versuch I etwas kleiner als die bei Versuch II gewesen ist. Es wäre demnach denkbar, dafs im I. Versuch eine längere Zeit erforderlich war, bis die Maximalzahl der Bakterien erreicht wurde und infolgedessen auch erst später der Höhepunkt der Kohlensäureentwicklung eintreten konnte. Damit würde der langsame Anstieg der Kohlensäureproduktion in Versuch I verständlich werden. Immerhin fällt dabei auf, dafs bei den beiden Versuchen die Erreichung des Gipfels der CO_2-Bildung um zehn

Tage differiert, ein verhältnismäſsig recht langer Zeitraum, in Anbetracht dessen, daſs die Einsaaten nicht sehr groſse Verschiedenheit in bezug auf die Bakterienmengen aufweisen konnten. Selbst wenn man auch einen Teil der Tagesunterschiede auf die Abhängigkeit der Kohlensäureabgabe aus der Kulturflüssigkeit von kleinen Schwankungen der Brutschranktemperatur, die wohl kaum ganz ausgeschaltet werden können, und von solchen des Luftdruckes zurückzuführen hat, so müssen doch diese Einflüsse sich ganz gleichartig bei beiden Versuchen geltend gemacht haben. Die nicht zu leugnenden Abweichungen der beiden Versuche voneinander in bezug auf die Gröſse und die Verschiedenheit des Ablaufes der CO_2-Bildung finden dadurch keine genügende Erklärung. Man ist demnach gezwungen, noch andere Möglichkeiten zu erörtern, die eventuell zum Verständnis dieser Erscheinung beitragen können.

Bisher ist vielfach noch die Anschauung verbreitet, daſs die Individuen einer Bakterienart ganz genau übereinstimmende Gröſsen in bezug auf ihre Lebenstätigkeit darstellen. Es wird unbewuſst die Voraussetzung gemacht, daſs z. B. 1000 Bakterien einer Art, denselben Versuchsbedingungen unterworfen, stets auch dieselbe Arbeitsleistung aufweisen müssen. Auf dieser Anschauung beruhen die Schlüsse, welche in diagnostischer Beziehung aus der Wachstumsintensität, der Säure- oder Alkalibildung in der Bakteriologie gezogen werden. Wenn man aber die Erfahrungen berücksichtigt, welche sich aus den besser bestimmbaren und darum auch gründlicher erforschten Leistungen der höher organisierten Lebewesen ergeben, so folgt, daſs obige Voraussetzung für die Bakterien erst noch bewiesen werden muſs. Sind die Mikroorganismen denselben biologischen Grundsätzen unterworfen wie die höheren Lebewesen, so muſs auch wie bei diesen eine gewisse Verschiedenheit der Individuen in bezug auf Stoffwechselleistungen selbst bei gleichen äuſseren Lebensbedingungen und Ernährungsverhältnissen vorausgesetzt werden. Es würde demnach nicht nötig sein, daſs je 1000 Bakterien einer Art, auch wenn sie demselben Pilzrasen entstammten, immer dieselben Arbeitsleistungen vollbrächten. Je nach der Beschaffenheit

der einzelnen Individuen müfsten gröfsere oder kleinere Differenzen zutage treten. Berücksichtigt man diese Möglichkeit bei der Beurteilung der beiden Versuchsergebnisse, so werden die Unterschiede schon etwas verständlicher. Es wären danach bei Versuch I weniger leistungsfähige Keime tätig gewesen als bei Versuch II; im ersteren steigen die CO_2-Werte langsamer an und fallen auch verhältnismäfsig schneller ab, während in letzterem schneller Anstieg, längeres Verweilen auf einer gewissen Höhe der Leistung und langsames Absinken zu beobachten ist.

Es ist ohne weiteres klar, dafs, wenn mit der Inkonstanz der Stoffwechselgröfse der einzelnen Bakterienindividuen einer Art gerechnet werden mufs, die Schwierigkeiten für die Gewinnung von diagnostisch verwertbaren Arbeitsleistungen bedeutend wachsen. Wenn nun auch zugegeben werden mufs, dafs eine Verschiedenheit der einzelnen Bakterienzellen in bezug auf die Gröfse ihres Stoffwechsels vorhanden sein kann, so liefse sich doch einwenden, dafs ihr zwar eine theoretische, aber nur eine geringe und für die Praxis nicht in Frage kommende Bedeutung zuzusprechen wäre. Die Unterschiede in den Arbeitsleistungen der Masseneinheit einer Bakterienart könnten so klein sein, dafs sie nur minimale Schwankungen um eine mittlere Konstante, die für dieselbe charakteristisch ist, darstellen. Es wäre somit die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, dafs für die einzelnen Bakterienarten ein bestimmter Typus für den Ablauf des Stoffwechsels aufgestellt werden könnte. Wählt man die Kohlensäureproduktion als Mafsstab für den Stoffwechsel, so müfste sich durch die Messung ihrer Gröfse und ihres Ablaufes ein solcher Typus, in diesem Falle für den Staphylococcus aureus, gewinnen lassen.

Ein Blick auf die Kurven, welche die 24stündigen CO_2-Werte enthalten, lehrt jedoch, dafs sie sich infolge der bedeutenden Verschiedenheit ihres Ablaufes für diesen Zweck nicht eignen. Besser würden dagegen die Gruppenkurven passen, da ihr Verlauf bei beiden Versuchen eine befriedigendere Übereinstimmung zeigt.

Meines Wissens sind aufser von Hesse bis jetzt noch keine Versuche gemacht worden, solche Stoffwechseltypen für die Bakterienarten festzulegen, obgleich dadurch möglicherweise diagnostisch wichtige Anhaltspunkte für die Trennung verwandter Arten gewonnen werden könnten, die infolge der Berücksichtigung des Chemismus der Bakterienzelle wesentlich bessere Unterscheidungsmerkmale als die sonst gebräuchlichen darstellen würden. Es liegt mir natürlich fern, auf Grund dieser beiden Versuche einen CO_2-Typus für den Staphylococcus aureus aufstellen zu wollen, dazu würde eine ganze Reihe von derartigen Versuchen gehören, aus denen als Resultat ein mittlerer Typus konstruiert werden müfste. Soviel kann jedoch schon aus diesen beiden Versuchen entnommen werden, dafs man bei diesen Forschungen mit erheblichen Abweichungen im einzelnen zu rechnen haben wird.

Wie verhält sich weiter die Gesamtmenge der in den beiden Versuchen gebildeten Kohlensäure zueinander?

Im I. Versuch wurden in 74 Tagen 5985,55 mg CO_2 gebildet, im II. Versuch 6717,59 mg CO_2, also mehr 732,04 mg CO_2.

Der tägliche Durchschnitt betrug bei Versuch I 80,885 mg, bei Versuch II 90,778 mg CO_2.

Die gebildete CO_2-Menge entspricht einer Oxydation von Kohlenstoff beim I. Versuche von 1632,42 mg, beim II. Versuche 1832,07 mg.

Aus diesen Zahlen läfst sich zugleich ein Einblick in die durch den Staphylokokkus bewirkte Zersetzung des in der Nährbouillon vorhanden gewesenen Eiweifses gewinnen. Man kann wohl annehmen, dafs der oxydierte Kohlenstoff in der Hauptsache von den in dem Witteschen Pepton enthaltenen Albumosen geliefert worden ist. Rechnet man den mittleren Kohlenstoffgehalt der Albumosen zu rund 55 %, so würden, da 7 g Pepton zur Bereitung des Nährbodens verwendet wurden, in Versuch I 42,389 % und in Versuch II 47,584 % zerstört worden sein. Diese Werte bedürfen jedoch insofern noch einer Korrektur, als in beiden Versuchen durch Entnahme von Flüssigkeitsproben zur Feststellung der Reinheit der Kultur eine Verminderung der Gesamt-

albumosenmenge eingetreten war. Im I. Versuche waren 93,5 ccm, im II. 123,0 ccm entnommen. Da aber ein Teil dieser Albumosen ebenfalls schon bei der Entnahme zersetzt gewesen sein mufs, so ist die Verrechnung des Restes sehr schwierig. Immerhin ergibt die Berücksichtigung dieser Korrektur noch eine Verschiebung zugunsten des Versuches II.

Die Vergleichung der beiden Versuchsergebnisse läfst deutlich erkennen, dafs die Arbeitsleistung der Bakterienmasse in Versuch II am bedeutendsten gewesen ist, es sind rund 5,2% mehr von dem Kohlenstoff oxydiert worden als bei I. Als Ursache für diese Differenz kann man einmal die verschieden grofse Bakterienmasse ansehen. Will man sie jedoch als die alleinige Erklärung gelten lassen, dann taucht sofort eine neue Schwierigkeit auf, nämlich die Frage, warum bei einer verschieden grofsen Aussaat trotz der langen Versuchsdauer von 74 Tagen nicht allmählich doch ein Ausgleich eingetreten ist. Man sollte meinen, dafs in einem Nährboden von gleicher Zusammensetzung und Menge eine kleine Aussaat schliefslich doch, wenn auch etwas später, dieselbe Bakterienentwicklung und die gleiche Arbeitsleistung hervorbringen würde wie eine gröfsere. Wenn dieses nicht geschieht, wie es sich aus diesen beiden Versuchen zu ergeben scheint, zumal die Aussaaten nicht erheblich differieren konnten, so ist man doch wohl genötigt, den Umstand zu berücksichtigen, der bereits bei der Besprechung des Ablaufes der Kohlensäureproduktion erwähnt wurde, dafs mit der Inkonstanz der Arbeitsgröfse der einzelnen Bakterienindividuen derselben Art auch unter sonst gleichen Versuchsbedingungen gerechnet werden mufs.

Nach der Wirkungsweise des Staphylokokkus im tierischen Gewebe (ausgedehnte Einschmelzung desselben) war auch eine starke Zerstörung des Eiweifses der Nährbouillon und das Auftreten eines Endproduktes des Abbaues, des Ammoniaks, zu erwarten. Es war mir nicht möglich, die Ammoniakproduktion in derselben Ausdehnung wie die CO_2-Bildung zu verfolgen, sondern ich habe nur die während der beiden Versuche gebildete Gesamtmenge dieses Stoffwechselproduktes bestimmt. Dasselbe

konnte als freies Ammoniak gebildet werden und mit dem Durchlüftungsstrom entweichen oder aber in Form von verschieden zusammengesetzten NH_3-Verbindungen, wie Methylamin, Trimethylamin und ähnlichen, in der Kulturflüssigkeit verbleiben. Ersteres wurde durch Überleiten des Luftstromes über konzentrierte Schwefelsäure absorbiert und am Schlusse des Versuches durch Destillation mit überschüssiger Natronlauge gewonnen, in einer abgemessenen, aber überschüssigen Menge $^1/_2$ n.-Salzsäure aufgefangen und aus dem Überschufs der Säure durch Titration mit $^1/_4$ n.-Natronlauge bestimmt. Letzteres wurde durch Destillation der verdünnten Kulturflüssigkeit mit Sodalösung erhalten, die eine ammoniakalische Zersetzung des Peptons nicht herbeiführt, wie sie von fixem Alkali in Gestalt von Kali- oder Natronlauge zu erwarten war. Die Ausführung dieser Destillation geschah folgendermafsen:

Von der Kulturflüssigkeit kamen 10—20 ccm in einen 500 ccm fassenden Kolben, in den vorher 200 ccm destilliertes aufgekochtes Wasser und 10 ccm einer 10%igen Sodalösung gegeben waren. Dann wurde langsam destilliert, das Destillat in 10 ccm $^1/_2$ n.-Salzsäure aufgefangen und die übergegangene Ammoniakmenge durch Titration mit $^1/_4$ n.-Natronlauge bestimmt.

Von dem flüchtigem NH_3 waren in der vorgelegten Schwefelsäure am Ende der Versuche absorbiert:

bei	I:	102,64 mg	= 84,52 mg N
»	II:	114,96 »	= 94,66 » »
demnach mehr bei	II:	12,32 mg NH_3.	

Bei der Bestimmung der in der Kulturflüssigkeit zurückgebliebenen NH_3-Verbindungen war daran zu denken, dafs bereits in der unbeschickten Nährlösung, möglicherweise aus dem Pepton und den Fleischextraktstoffen stammend, eine gewisse Menge derartiger Verbindungen vorhanden sein konnte. In der Tat liefsen sich in der sterilen Versuchsbouillon nicht unerhebliche Mengen NH_3 durch Destillation mittels Sodalösung gewinnen. Auch Berghaus[1]) hat dieses Vorkommnis in seiner

1) Über die Ammoniakbildung bei einigen Bakterienarten. Archiv für Hygiene, Bd. 64, S. 1.

Arbeit über die Ammoniakbildung bei einigen Bakterienarten erwähnt; er bediente sich jedoch zur Bestimmung des NH_3 der von Schlösing angegebenen Methode.

Die NH_3-Bestimmung in der unbeschickten Nährbouillon für die beiden Versuche ergab für 100 ccm Nährboden 21,25 mg. In der beschickten Bouillon wurde am Schlusse der Versuche für 100 ccm gefunden:

bei I: 53,125 mg NH_3,	bei II: 81,6 mg NH_3
— 21,25 » »	— 21,25 » »
31,875 mg = 26,24 mg N	60,35 mg = 49,698 mg N.

Berechnet man danach die dem NH_3 entsprechende Menge des gespaltenen Eiweiſses, so ergibt sich folgendes: Die Kulturflüssigkeit von I enthielt 26,24 mg × 7 = 183,68 mg N.

demnach 84,52 mg N
+ 183,68 » »
268,20 mg N

Diese Zahl, in Eiweiſs umgerechnet durch Multiplikation mit 6,25, ergibt: 1676,25 mg Eiweiſs, die zersetzt worden wären, ohne Berücksichtigung der genannten Verringerung der Nährbodenmenge. Bei Versuch II sind die entsprechenden Zahlen: 49,698 × 7 =

94,66 mg N,
+ 347,83 » »
= 442,49 mg N, mit 6,25 multipliziert = 2765,5625 mg Eiweiſs.

Es wären also zersetzt worden bei Versuch I rund 1,6 g Eiweiſs, bei Versuch II rund 2,7 g Eiweiſs.

Von dem vorhandenen Eiweiſs sind mithin in Versuch I 23,946%, in Versuch II 39,508% gespalten worden.

Eine Vergleichung dieser Zahlenwerte ergibt gleichfalls in Übereinstimmung mit der bei der CO_2-Bildung beobachteten Tatsache, daſs die Bakterienmasse des Versuchs II eine gröſsere Arbeitsleistung als die bei Versuch I vollbracht hat.

Die bei diesen Parallelversuchen gefundenen Gröſsen für die Kohlensäureproduktion und die Eiweiſszersetzung können

jedoch erst dann in der richtigen Weise gewürdigt werden, wenn sie in Beziehung zu der dabei wirksamen Bakterienmasse gebracht werden. Da diese beiden Versuche nach der ganzen Anordnung hauptsächlich darauf berechnet waren, einen Aufschlufs über den Ablauf des Bakterienlebens, beurteilt nach der Kohlensäureproduktion, zu geben, so mufste auf eine systematische Bestimmung der Anzahl der lebenden, fortzüchtungsfähigen Keime verzichtet werden. Die gelegentlich der Flüssigkeitsentnahme angestellten Keimzählungen will ich jedoch anführen, da die Vergleichung der Bakterienzahlen mit den Kohlensäurewerten der Entnahmetage manches Bemerkenswerte darbietet. Die erste Keimzählung bei Versuch I fand am 7. Versuchstage statt; es wurden in 1 ccm 2108 Millionen festgestellt. Ein Blick auf die Kurve der Tabelle lehrt, dafs an diesem Tage ein erheblicher Abfall der CO_2-Bildung vorhanden war.

Am 14. Tage 2. Zählung 111 Millionen, gleichzeitig aber der Höhepunkt der CO_2-Produktion. Am 21. Tage 3. Zählung 1354 Millionen, ein wesentlicher Abfall des Kohlensäurewertes gegen den 14. Tag. 4. Zählung am 45. Tage 95430000. Bei Beendigung des Versuches am 74. Tage wurden noch 1300000 Keime in 1 ccm gezählt. Es ergibt sich aus diesen Zahlen die auffällige Tatsache, dafs der Höhepunkt der Kohlensäureentwicklung mit einem auffallenden Tiefstande der Bakterienzahl zusammen gefallen ist.

Versuch II.

Nach der Einsaat:	14 420	Keime	in	1	ccm
2. Tag:	1 155 250 000	»	»	1	»
7. »	3 300 000 000	»	»	1	»
14. »	217 000 000	»	»	1	»
21. »	810 000 000	»	»	1	»
45. »	18 866 000	»	»	1	»
74. »	1 400 000	»	»	1	»

Bei diesem Versuche treten solche bedeutenden Unterschiede wie bei I nicht zutage. Entsprechend dem Ablaufe der Kurve, sind die Bakterienzahlen wesentlich gleichmäfsiger. Von einem näheren Eingehen auf die Deutung dieser Zahlen will ich an dieser Stelle Abstand nehmen, da bei später angeführten Ver-

suchen die Beziehungen zwischen CO_2-Bildung und Bakterienmenge noch ausführlicher besprochen werden sollen.

Bei der Bestimmung der wirksamen Bakteriensubstanz in diesen beiden Versuchen konnte es sich nur darum handeln, die Masse der am Schlusse in der Kulturflüssigkeit suspendierten Bakterienleiber dem Gewichte nach festzustellen. Die Schwierigkeiten, derartige Bakterienernten aus gröſseren Flüssigkeitsmengen quantitativ zu bestimmen, sind ganz erheblich. Allgemein gebräuchliche Methoden gibt es hierfür überhaupt nicht, wenn man von der durch Rubner ausgearbeiteten Methode der Fällung der Bakterien mit Eisenazetat absieht, die bisher nur von seinen Schülern angewendet worden ist. Da mir die Handhabung dieser Methode nicht geläufig war, habe ich versucht, einen anderen Weg für die Erntebestimmung zu finden.

Bei der Rubnerschen Methode wird der Stickstoffgehalt der Bakterien für die Berechnung der Bakterienmenge herangezogen. Dieser Bestandteil der Bakterienzellen ist verhältnismäſsig groſs und auch gut bestimmbar, wenn gröſsere Bakterienmengen vorhanden sind.

Von der Erwägung ausgehend, daſs der Stickstoffgehalt einer bakterienhaltigen Nährlösung höher sein muſs als derjenige der Lösung nach Entfernung der Bakterienleiber, versuchte ich, durch eine Stickstoffbestimmung der bakterienhaltigen Versuchsbouillon und einer solchen nach Filtration durch ein Chamberlandfilter aus der Stickstoffdifferenz die Bakterienmasse zu berechnen. Bevor ich jedoch die durch diese Methode gefundenen Werte mitteile, ist es notwendig, ihre Anwendung näher zu erläutern. Die Brauchbarkeit hängt ab von der Erfüllung einer Reihe von Vorbedingungen. Zunächst war es denkbar, daſs bei der Filtration der Nährbouillon durch ein Chamberlandfilter nicht allein die Bakterien, sondern auch noch andere stickstoffhaltige Verbindungen zurückgehalten würden. Die Folge wäre eine gröſsere Stickstoffdifferenz, als dem Bakteriengehalte entsprach, gewesen. Die daraufhin mit unbeschickter Bouillon angestellten Vorversuche ergaben jedoch, daſs die Menge der stickstoffhaltigen Substanzen durch die Filtration

keine Veränderung erfährt. Selbst wenn durch diese Prüfung ein Filtrationsverlust an N erwiesen wäre, dann hätte sich immer noch durch eine Eichung des Filters in dieser Richtung eine bei der Berechnung zu berücksichtigende Konstante gewinnen lassen. Ferner ist es erforderlich, dafs die Filter völlig frei von stickstoffhaltigen Substanzen sind, die möglicherweise bei der Filtration in das Filtrat übergehen können. Diese Fehlerquelle läfst sich durch starkes Glühen der Filterkerzen, nachfolgendes Auswaschen mit destilliertem Wasser und Trocknen im Heifsluftsterilisator ausschalten. Weiter empfiehlt es sich, zu den Bestimmungen möglichst grofse Flüssigkeitsmengen zu verwenden, da bei kleinen die durch den N-Gehalt der Bakterienleiber bedingte Differenz kaum über die Grenze der Titrationsfehler hinausgeht. Aus demselben Grunde ist es auch erwünscht, dafs die Bakterienmengen recht grofs sind. Dieses war bei dem üppigen Wachstum des Straphylokokkus und der langen Dauer der Versuche stets der Fall. Unter Berücksichtigung dieser Vorbedingungen liefert diese Methode ganz brauchbare Resultate. Der einzige Nachteil dieses Verfahrens gegenüber dem Rubnerschen besteht wohl darin, dafs die Gesamtmasse nicht auf einmal bestimmt werden kann, sondern durch Umrechnung gefunden werden mufs; es kommen auf diese Weise bei dem Gesamtwerte event. Multiplikationsfehler in Betracht.

Die Stickstoffbestimmung wurde stets nach der Methode von Kjeldahl ausgeführt.

Leider konnte die Bestimmung nach dieser Methode nur bei Versuch II durchgeführt werden, da die Bouillon bei Versuch I bei der Ausprobung anderer Filtrationsmethoden, Filtration durch gehärtete Papierfilter, Asbest- und Kieselgurfilter, verbraucht war.

Die Differenz betrug bei Versuch II 32,15 mg N für 100 ccm Kulturflüssigkeit. Demnach für die Gesamtmenge (700 ccm — 123 ccm, im Laufe des Versuches entnommen, = 577) = 32,15 × 5,77 = 185,505 mg N.

Hierbei ist gleichfalls die schon erwähnte Fehlerquelle durch die Flüssigkeitsentnahme nicht in Betracht gezogen.

Hat man auf diese Weise die auf die Bakteriensubstanz zu beziehende Stickstoffmenge gefunden, so läſst sich daraus die Bakterienmasse berechnen, wenn man den N-Gehalt der Gewichtseinheit der Staphylokokken in trockenem und feuchtem Zustande kennt.

Die Bestimmung des Stickstoffgehaltes eines auf einem festen Nährboden gewachsenen Pilzrasens läſst sich ohne besondere Schwierigkeiten ausführen. Für eine 24 Stunden alte Kultur des Staphylococcus aureus, auf 1 % Wittepeptonhaltigem Agar gewachsen, fand ich als Mittelwert für 1 mg trockene Bakteriensubstanz 0,08274 mg N. Die Bestimmung wurde in der Weise ausgeführt, daſs der Bakterienrasen vorsichtig vom Nährboden abgestreift, im Platintiegel bei 100° C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und die N-Bestimmung nach Kjeldahl angeschlossen wurde.

Es beträgt demnach der Gesamt-N-Gehalt bei dem Staphylococcus aureus 8,274 %. Aus dem so gefundenen Gesamtstickstoff läſst sich durch Multiplikation mit 6,25 die Stickstoffsubstanz berechnen = 51,71 %.

Für die Beurteilung dieser Werte dürfte es von Interesse sein, wenn ich die von Cramer[1]) bei seinen Untersuchungen über die Zusammensetzung der Bakterien in ihrer Abhängigkeit von dem Nährmaterial gefundenen entsprechenden Zahlen von einigen Bakterienarten zur Vergleichung anführe.

Cramer fand auf gewöhnlichem Agar nach 48stündigem Wachstum

1. bei Pfeiffers Kapselbazillen	10,65 % N	= 66,56 %	Stickstoff
2. Bazillus Nr. 28	11,69 % »	= 73,06 %	»
3. Friedländerscher Pneumoniebazillus	11,48 % »	= 71,75 %	»
4. bei dem Rhinosklerombazillus	10,94 % »	= 68,37 %	»

Leider hat er seine Untersuchung nicht auch auf eine Kokkenart ausgedehnt, die entsprechenden Zahlen würden eine bessere Gegenüberstellung zulassen. Es fällt auf, daſs der N-Wert für den Staphylokokkus wesentlich niedriger ist als bei

1) Cramer, Archiv für Hygiene, Bd. 16, S. 151.

den genannten Bazillenarten. Ob es sich hier um eine Zufälligkeit handelt, müssen weitere Untersuchungen ergeben.

Aus dem N-Gehalte der trockenen Bakteriensubstanz kann der der feuchten Bakterienmasse gefunden werden, wenn vor der Trocknung der feuchte Pilzrasen gewogen wird. Demnach würde sich der N-Gehalt von 1 g feuchter Bakterienmasse vom Staphylokokkus aureus (Agarkultur) auf 0,02249 g belaufen. Weiterhin läfst sich durch Keimzählungen fesstellen, wieviel Bakterienindividuen auf ein 1 mg bzw. 1 g entfallen, so dafs mit dem bekannten N-Gehalt rechnerisch auf diesem Umwege auch die lebende, fortpflanzungsfähige Bakterienzahl bestimmbar ist. Durch diese Methode ist es also möglich, auf Grund der N-Bestimmung zur Kenntnis der lebenden, wirksamen Bakterienmasse zu gelangen und die durch die gemessenen Spaltungsprodukte ausgedrückte Arbeitsleistung auf die Menge der lebenden Bakterienzellen zu beziehen.

Nach meinen Versuchen kämen auf 1 mg feuchten Staphylokokkenpilzrasen oder 0,02249 mg N 24 std. Agarkultur *1086170211* Individuen. Da die Zahl für die Gesamternte ins Ungeheure gehen würde, so will ich davon absehen, die Ernte des Versuches II, 185,505 mg N, in der Summe der Einzelindividuen auszudrücken. Es genügt, als Mafs für die Arbeitsleistung die Gewichtsmengen der Bakterienmasse anzuführen. 1 mg Staphylokokkenpilzrasen wird durch 0,02249 mg N dargestellt, die Bakterienernte von 185,505 mg N würde demnach eine wirksame Bakterienmasse von 8,248 g anzeigen. Bei diesen Berechnungen mufs jedoch der Umstand in Betracht gezogen werden, dafs sowohl für die N-Bestimmung des Bakterienleibes, wie auch für die der lebenden, fortzüchtbaren Individuen die Ernte von Agarkulturen zugrunde gelegt ist. Nach den Untersuchungen von Cramer steht fest, dafs die Art des Nährbodens von Einflufs auf den N-Gehalt der Bakterienleiber ist. Es dürften mithin die Bakterienernten aus einer Peptonbouillon nicht ohne weiteres denen von Peptonagar gleichgestellt werden. Trotzdem kann man wohl ohne grofse Fehlerquellen annehmen, da der Gehalt der Nährmedien, Bouillon und Agar, 1 % Pepton beträgt, dafs

der Stickstoffgehalt der Bakterien in beiden Fällen ziemlich gleich sein wird. Will man danach eine Gleichung für die Arbeitsleistung des Staphylokokkus aufstellen, dann könnte man sagen, dafs bei Versuch II durch 8,248 g Bakterienmassen in 74 Tagen 1,83207 g Kohlenstoff zu Kohlensäure oxydiert und 2,7655625 g Eiweifs gespalten worden seien. Für 1 g Bakterienmasse wären die entsprechenden Werte:

0,22218 g C
0,335 g Eiweifs,

der Durchschnittswert für den Tag würde betragen:

0,003002 g C
0,00452 g Eiweifs.

Die Versuche, die Arbeitsleistungen einer bestimmten Bakterienart durch Berechnungen, wie sie oben angeführt sind, zahlenmäfsig festzulegen, bieten eine gute, ja vielleicht die einzige Handhabe, um einen Überblick über die Gröfse der Umsetzungen bei dem Leben der Bakterien zu erhalten. Wenn aber am Schlusse eines längeren Versuches die Bakterienernte bestimmt wird, so sind zunächst noch einige Erwägungen anzustellen, die für die Deutung der gefundenen Werte von Wichtigkeit sind. Wollte man den gefundenen Wert für die Bakterienmasse 8,248 g als die der Wirklichkeit entsprechende, allein wirksame lebende Substanz betrachten, so müfste man die Annahme machen, dafs alle einmal in der Kulturflüssigkeit zur Entwicklung gelangten Keime entweder am Leben geblieben wären oder sich doch in bezug auf die Zusammensetzung ihrer Leibessubstanz bis zum Schlusse unverändert erhalten hätten. Es fragt sich, ob eine derartige Annahme berechtigt ist oder ob die bisher über diese Vorgänge festgestellten Tatsachen zu einer anderen Auffassung nötigen. Alle Untersuchungen, die sich mit der Lebensdauer der Bakterienarten beschäftigt haben, konnten ihre Beobachtungen stets nur auf grofse Bakterienmengen und niemals auf das einzelne Individuum ausdehnen. Die Ergebnisse, welche durch derartige Forschungen gezeitigt worden sind, können demnach immer nur Werte für eine ganze

Generation darstellen. Unsere Kenntnisse über die Lebensdauer der einzelnen Bakterienzelle, ferner auch über die Teilungshäufigkeit der Mutterzelle sind äufserst gering. Vergegenwärtigt man sich nun die bei einem längeren Versuche in der Kulturflüssigkeit sich abspielenden Vorgänge, so kommt man zu der Auffassung, dafs die Erntebestimmung am Schlusse eines längeren Versuches mit gewissen Einschränkungen zu beurteilen ist. Es ist nach allen unseren Erfahrungen mit der Möglichkeit zu rechnen, dafs im Laufe der Versuchszeit eine Menge von Individuen zugrunde geht; weiter wissen wir, dafs abgestorbene Bakterien bald auch der Auflösung ihrer Leibessubstanz verfallen. Gefärbte Ausstrichpräparate von älteren Bakterienkulturen zeigen die Veränderungen des Bakterienprotoplasmas nach dieser Richtung hin sehr deutlich. Wenn nun tatsächlich bei einem derartigen Versuche gröfsere Mengen von Bakterien abgestorben und der Auflösung anheimgefallen sind, so kann die am Schlusse gewonnene Bakterienernte den wahren Wert der zur Entwicklung gekommenen Bakterienmasse nicht angeben. Eine weitere Folge dieser Erscheinung ist dann die, dafs durch die zerfallenen Bakterien wieder Nährstoffe frei werden, die den vorhandenen Vorrat von neuem ergänzen. Dafs in der Tat einzelne Bakterienarten die Fähigkeit haben, aus den Leibern der zugrunde gegangenen Individuen ihren Bedarf an Nahrungsstoffen zu decken, ist bereits bekannt. Eine weitere Stütze für diese Auffassung liefern Beobachtungen, die in hiesigem Institut von Winter[1]) an Ruhrbazillen gemacht worden sind. Er konnte fesstellen, dafs auf älteren Ruhrbazillenkolonien frische Sekundärkolonien auftraten, die nicht im Zusammenhang mit dem Nährboden standen. Aus diesen Überlegungen würden sich folgende nicht aufser acht zu lassende Momente für die Beurteilung einer Bakterienernte, wie sie oben versucht worden ist, ergeben:

1. Der gefundene Wert für die Bakterienmasse kann nicht als Ausdruck für die tatsächliche Gröfse der wirksamen Substanz

---

[1]) Die Arbeit wird demnächst veröffentlicht werden.

betrachtet werden, weil die aufgelösten Individuen nicht in der Ernte enthalten sind.

2. Die nach der Ernte berechnete Arbeitsleistung wird zu hoch angesetzt, da sie auf eine zu kleine Anzahl von Bakterien bezogen wird.

3. Der Verbrauch an Nahrungsstoffen des Nährmediums wird zu niedrig berechnet, weil ein Teil wiederum durch die aufgelösten Bakterienleiber ergänzt sein kann.

Diese Einschränkungen der Verwertung einer Bakterienernte nach längeren Versuchen stehen oder fallen mit der Erweiterung unserer Kenntnisse über das Leben des einzelnen Bakterienindividums. Bei exakten Forschungen dürfen sie jedoch nach dem gegenwärtigen Stande unseres Wissens nicht unberücksichtigt bleiben.

Wenn in den vorstehenden beiden Versuchen die Bildungsgröfse und der Ablauf eines Stoffwechselproduktes, der Kohlensäure, zum Gegenstande der Untersuchung gemacht wurde, so sollten die folgenden drei dazu dienen, über den Ablauf der Bakterienentwicklung in Beziehung zu der Kohlensäureproduktion Aufklärung zu verschaffen. Es wurden täglich die Kohlensäuremengen und die im Kubikzentimeter enthaltenen Keime festgestellt. Bei allen drei Versuchen kam die gewöhnliche Nährbouillon zur Verwendung.

Bei Versuch IV und V wurden der Kulturflüssigkeit Gips bzw. Marmor zugesetzt. Ersterer Zusatz sollte dazu dienen, den störenden Einflufs von gröfseren Ammoniakmengen durch Bildung von schwefelsaurem Ammoniak auszuschalten, letzterer, die möglicherweise auftretende Säuerung des Nährbodens zu vermeiden.

Die gefundenen Werte für Versuch III, IV und V sind in folgenden Übersichten enthalten:

Versuch III.

Menge der Nährbouillon 700 ccm.

Reaktion schwach alkalisch. Die Versuchsanordnung entsprach derjenigen von Versuch I und II.

Versuchstage	Gemessene CO_2-Menge in mg	CO_2-Menge nach der stündlichen Lüftung auf die 24 stündige Menge berechnet in mg	Keime in 1 ccm Einsaat 10 150
1	162,8	162,8	729 600 000
2	158,4	253,44	972 000 000
3	107,76	107,76	1 461 000 000
4	104,5	104,5	1 019 000 000
5	294,8	294,8	—
6	164,92	158,3	—
7	138,56	135,72	20 600 000
8	112,16	109,87	50 800 000
9	88,0	140,78	49 000 000
10	156,0	124,8	154 000 000
11	97,0	113,23	218 400 000
12	123,2	125,8	992 000 000
13	118,8	126,72	856 000 000
14	114,4	118,08	915 000 000
15	123,2	127,15	918 000 000
16	74,8	132,96	1 216 000 000
17	120,8	103,53	544 400 000
18	96,8	130,87	623 600 000
19	105,6	107,83	333 900 000
20	94,4	97,44	674 000 000
21	80,8	141,02	450 000 000
22	112,8	96,67	564 000 000
23	76,8	97,00	373 000 000
24	107,2	137,20	357 000 000
25	63,2	84,24	—

Da sich bei den ersten beiden Versuchen ergeben hatte, daſs der Gröſse der angewandten Lüftung keine ins Gewicht fallende Bedeutung für die CO_2-Bildung beizumessen ist, so habe ich bei diesen drei Versuchen die auf die Lüftung berechneten Werte fortgelassen, zumal auch eine Wirkung der Ventilation auf das Bakterienwachstum bei einer Vergleichung der entsprechenden Zahlen nicht erkennbar war. Wie bei den früheren Versuchen

Versuch IV.

700 ccm Bouillon, von schwach alkalischer Reaktion.

Zusatz von 50 g Gips.

Versuchstage	Gemessene CO_2-Menge in mg	CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung auf die 24 stündige Menge berechnet in mg	Keime in 1 ccm · Einsaat 9840
1	127,2	127,2	209 000 000
2	187,0	299,04	300 000 000
3	198,0	198,0	115 000 000
4	99,0	90,0	26 800 000
5	176,0	176,0	36 200 000
6	134,75	129,36	—
7	136,4	133,68	366 000 000
8	169,36	165,91	331 000 000
9	83,2	133,1	468 000 000
10	153,6	122,88	106 000 000
11	114,4	140,78	97 200 000
12	144,8	147,8	71 000 000
13	138,4	147,6	281 800 000
14	164,8	169,92	521 900 000
15	154,0	158,88	718 000 000
16	98,46	174,96	1 326 700 000
17	162,4	139,2	911 100 000
18	112,0	150,0	1 215 000 000
19	154,0	157,2	162 600 000
20	85,6	88,32	509 800 000
21	85,6	149,28	258 700 000
22	56,8	48,48	92 200 000
23	88,0	111,12	61 200 000
24	68,0	86,88	65 800 000
25	59,2	78,72	—

sind auch hier die 24 stündigen CO_2-Werte und die täglichen Keimzahlen für 1 ccm graphisch in Figur 3, 4 und 5 dargestellt. Da jedoch die Differenzen bei den Keimzahlen zu grofse Ausschläge gegeben hätten, so ist eine Reduktion der Werte durch Division mit 5 ausgeführt.

Bei der Beurteilung der CO_2-Kurven mufs vorausgeschickt werden, dafs die Tagesmengen nicht auf die gleiche Nährbodenmenge von 700 ccm bezogen werden können, da täglich im Durch-

Versuch V.

700 ccm schwach alkalische Bouillon.

Zusatz von 50 g Marmor.

Versuchstage	Gemessene CO_2-Menge in mg	CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung auf die 24 stündige Menge berechnet in mg	Keime in 1 ccm Einsaat 9580.
1	66,0	66,0	270 720 000
2	58,08	92,88	827 600 000
3	88,0	88,0	1 114 000 000
4	71,5	71,5	1 467 840 000
5	112,16	112,16	—
6	50,87	48,72	53 140 000
7	50,4	49,44	214 000 000
8	80,8	78,96	376 000 000
9	53,6	85,68	413 000 000
10	83,2	65,76	199 000 000
11	50,4	61,92	255 000 000
12	50,4	51,36	138 200 000
13	44,0	46,8	437 000 000
14	44,0	45,36	186 000 000
15	37,36	40,32	942 000 000
16	26,4	46,8	88 200 000
17	37,43	32,16	85 300 000
18	26,4	35,52	72 200 000
19	26,4	26,88	22 600 000
20	36,8	37,92	45 800 000
21	22,0	38,4	65 600 000

schnitt 15 ccm zu den Keimzählungen entnommen werden mufsten. Es lassen sich daher diese Kurven in bezug auf die Höhe der CO_2-Mengen mit denen der ersten beiden Versuche nicht ohne weiteres vergleichen, trotzdem aber können sie für die Feststellung des Ablaufes der CO_2-Bildung mit verwertet werden. Auch eine Vergleichung der CO_2-Menge mit den in 1 ccm gezählten Keimen ist zulässig, da ja zugleich mit der Nährbodenmenge auch stets die darin suspendierten entsprechenden Bakterienmassen ausgeschaltet wurden.

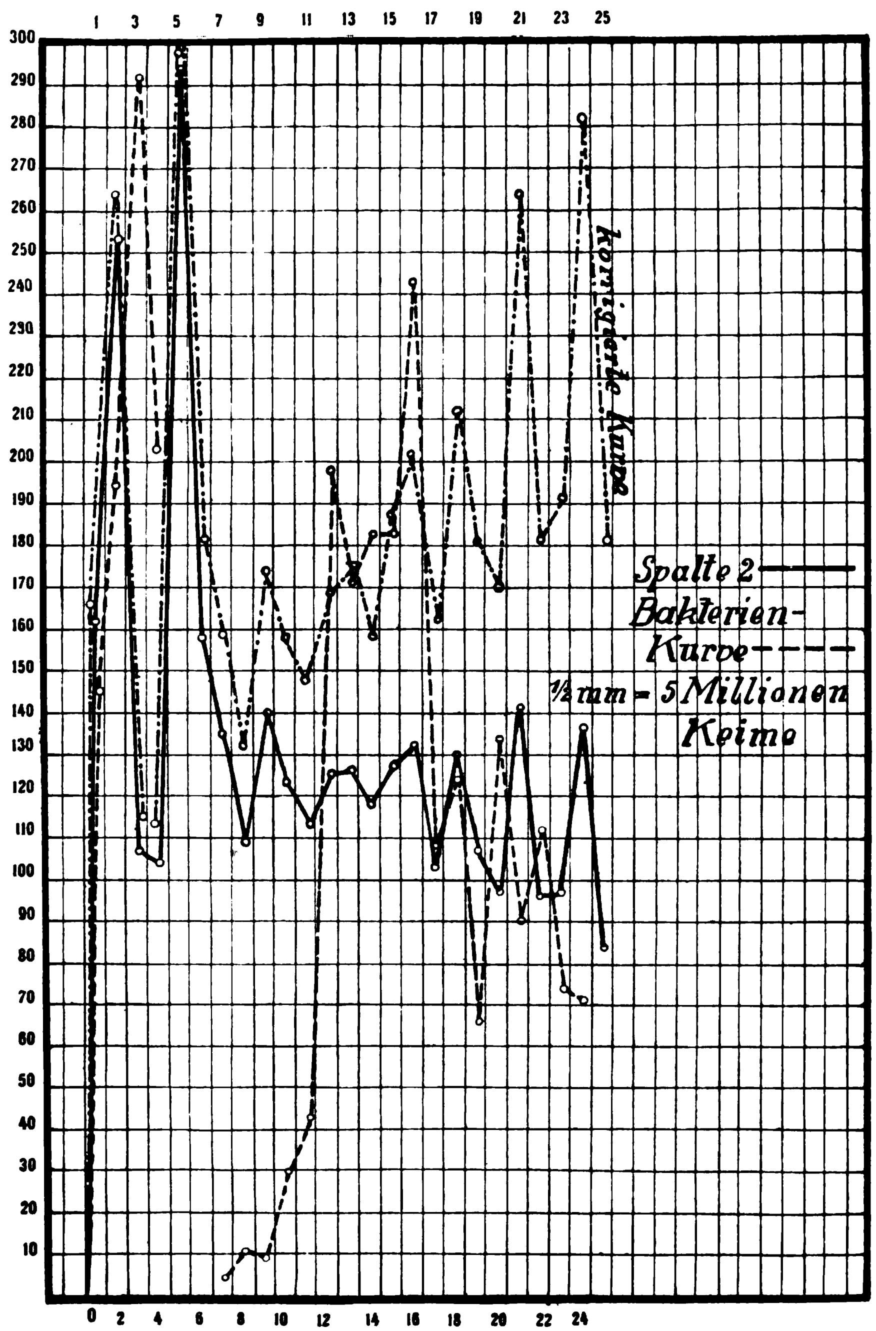

1
3
5
7
9
11
13
15
17
19
21
23
25
300
290
280
270
260
250
240
230
220
210
200
190
180
170
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
korrigierte Kurve
Spalte 2
Bakterien-Kurve
½ mm = 5 Millionen Keime

Fig. 8.

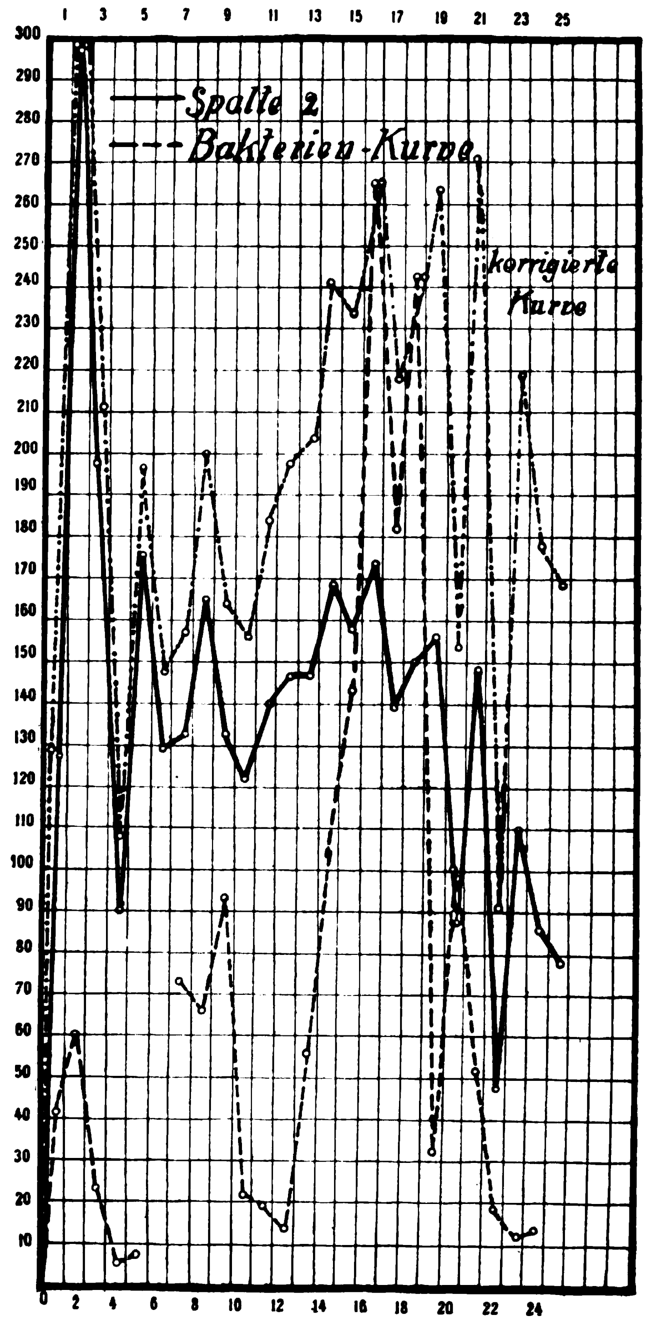

Spalte 2
Bakterien-Kurve
korrigierte Kurve
1 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21 23 25
300 290 280 270 260 250 240 230 220 210 200 190 180 170 160 150 140 130 120 110 100 90 80 70 60 50 40 30 20 10
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24

Fig. 4.

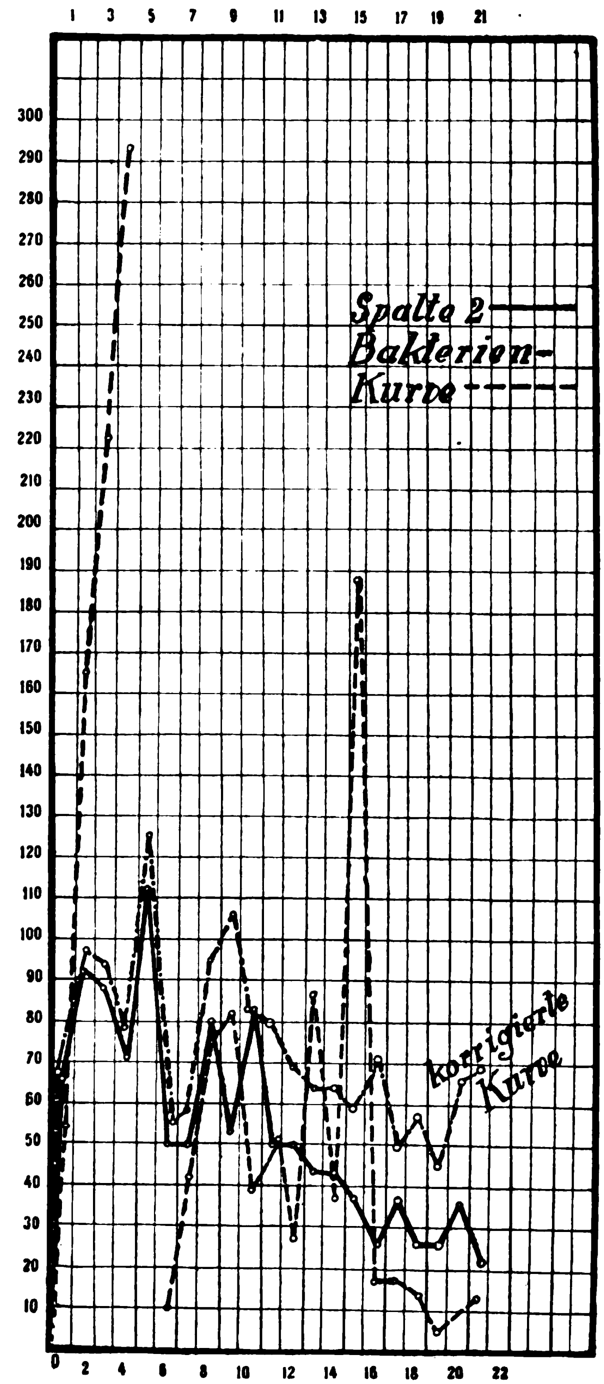

1 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21
300
290
280
270
260
250
240
230
220
210
200
190
180
170
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22
Spalte 2
Bakterien-Kurve
korrigierte Kurve

Fig. 5.

Versuch III.

Die CO_2-Kurve zeigt zu Anfang zunächst einen bedeutenden Anstieg bis zum 2. Tage, darauf am 3. und 4. einen erheblichen Abfall, dem ein erneuter und zugleich der stärkste Anstieg am 5. Tage folgt. Danach setzte ein ziemlich plötzliches Abfallen der Kurve ein, die sich nunmehr mit geringen Schwankungen auf einer gewissen Höhe bis zum 20. Tage hält und vom 21. ab von neuem gröfsere Tagesunterschiede erkennen läfst.

Bei der Kurve des Bakterienwachstums tritt ebenfalls ein gleichmäfsiger Anstieg bis zu dem Höhepunkt am 3. Tage auf, während die CO_2-Kurve an diesem Tage bereits einen bedeutenden Tiefstand aufweist. Am 4. Tage beginnt der Abfall. Die Keimzählungen am 5. und 6. Tage ergaben so auffallend niedrige Werte und ein so verzögertes Wachstum, dafs ich als Ursache einen Fehler im Nährboden annehmen zu müssen glaubte. In der Tat stellte sich bei der Prüfung der Gelatine heraus, dafs die Reaktion neutral bis schwach sauer war. Diese Mangelhaftigkeit des Nährbodens konnte erst einige Tage später entdeckt werden, da zwischen Aussaat und Keimzählung immer 3 Tage lagen. Zu meinem Bedauern findet sich derselbe Übelstand auch bei Versuch IV und V, die gleichzeitig mit Versuch III angesetzt waren. Vom 7. bis 10. Tage hält sich die Kurve auf einem gewissen Tiefstande, und vom 11. beginnt wiederum ein bis zum 16. Tage dauernder Anstieg, dem kein derartiger Anstieg der CO_2-Kurve entspricht. Vom 17. bis 24. Tage ist ein Abfall der Kurve mit Tagesschwankungen zu verzeichnen, die ungefähr gleichlaufend mit den CO_2-Differenzen sind.

Bei näherem Eingehen auf die Einzelschwankungen dieser beiden Kurven findet man jedoch, dafs die Höchstzahl der fortpflanzungsfähigen Keime erst erreicht wird, nachdem die Kohlensäuremenge bereits zurückgegangen ist. Ob dem Gipfel der Kohlensäuremenge am 5. Tage ein neuer Anstieg der Bakterienzahl in Wirklichkeit entspricht, mufs wegen des bereits erwähnten Versuchsfehlers unerörtert bleiben. Auffallend ist das bedeutende Anwachsen der Bakterienmengen vom 11 bis 16 Tage, das merkwürdigerweise keine entsprechende Vermehrung der CO_2-Bildung zur Folge gehabt hat. Bei dem Ablaufe der Kurve zum Schlusse des Versuches ist bemerkenswert, dafs am 20. und 22. Tage die Höhe der Bakterienkurve mit dem Tiefstand der CO_2-Kurve und am 21. Tiefstand der ersteren und Höhe der letzteren zusammenfällt.

Versuch IV.

Die CO_2-Kurve beginnt mit steilem Anstieg bis zum Höhepunkt am 2. Tage; darauf starker Abfall bis zum 4. Tage und ein zweiter kleinerer Anstieg am 5. Tage. Vom 6. bis zum 19. Tage hält sich die Kurve mit

geringen Schwankungen auf einer mittleren Höhe, und vom 20. bis 25. Tage setzen die gröſseren Tagesschwankungen ein.

Die Bakterienkurve weist zunächst ein verhältnismäſsig geringes Ansteigen auf, der Gipfel fällt mit dem der CO_2-Bildung auf den 2. Tag zusammen. Der zweite, etwas gröſsere Anstieg fällt auf den 9. Tag; die stärkste Bakterienentwicklung tritt in der Zeit vom 12. bis 18. Tage auf, ohne daſs auch in diesem Versuche die CO_2-Werte die Schwankungen mitmachen. Der 20. Tag bringt eine nochmalige geringere Steigerung der Bakterienmenge, und von da ab sinkt die Kurve schnell bis zum Schlusse ab.

In den ersten Tagen des Versuches zeigen die beiden Kurven einen gleichmäſsigen Verlauf. Derjenige vom 8. zum 9. und vom 10. zum 12 Tage ist entgegengesetzt insofern, als Höhepunkt und Tiefstand nicht korrespondieren. Die starke Bakterienvermehrung vom 12. bis 18. Tage wird nicht von einer entsprechenden Steigerung der CO_2-Mengen begleitet. Vom 19. zum 20., vom 20. zum 21. und vom 22. zum 23. Tage findet sich wiederum ein entgegengesetzter Verlauf.

Versuch V.

Der Ablauf der CO_2-Kurve weist keine sehr bedeutenden Tagesunterschiede auf. Der erste Gipfel fällt auf den 2. Tag, der 2. und höchste auf den 5. Darauf folgen vom 6. bis 12. Tage geringere Schwankungen in mittlerer Höhe. Vom 13. Tage beginnt das ziemlich gleichmäſsige Absinken bis zum 21. Tage.

Die Bakterienkurve zeigt einen anfänglichen gleichmäſsigen Anstieg mit dem Höhepunkt am 4. Tage. Der zweite niedrigere Gipfel fällt auf den 9. Tag, und vom 12. bis zum 15. Tage tritt von neuem stärkere Bakterienvermehrung hervor. Danach starker Abfall am 16. Tage und Verweilen auf einem Tiefstande bis zum Schlusse. Im einzelnen findet sich wie bei den beiden vorhergehenden Versuchen dasselbe Verhalten der Kohlensäure- und Bakterienkurve zueinander nämlich, daſs die auf und ab steigenden Schenkel der beiden Kurven sich kreuzen, und zwar vom 8. zum 9., 9. zum 10., 10. zum 11., 11 zum 12. Tage. Auch der hohe Anstieg der Bakterienzahl am 15. Tage wird von keiner Erhöhung der CO_2-Bildung begleitet.

Welche Schlüsse lassen sich aus diesen drei Versuchen über den Ablauf der CO_2-Bildung und ihre Beziehung zu der vorhandenen, fortpflanzungsfähigen Bakterienmenge ziehen?

Bei der Erörterung dieser Frage ist zunächst zu berücksichtigen, daſs die Nährböden nicht von der gleichen Zusammensetzung gewesen sind. Bei Versuch III und IV kam zwar Bouillon von derselben Zubereitung zur Verwendung, doch erhielt letztere, wie schon erwähnt, einen Zusatz von Gips. Zum V. Versuch wurde eine frische Bouillon hergestellt und ein Zu-

satz von Marmor gewählt. Zugleich war es möglich, dafs die Reaktion nicht genau mit der von III und IV übereinstimmte. Vergleicht man nun die CO_2-Kurven miteinander, so ergibt sich, dafs trotz dieser verschiedenen Zusammensetzung des Nährbodens, wenn auch keine völlige Übereinstimmung im einzelnen, aber doch eine nicht zu verkennende Ähnlichkeit im Ablauf vorhanden ist.

Die stärkste CO_2-Bildung fällt bei allen drei Versuchen in die ersten 5 Tage, und zwar zeigen alle zwei Gipfelpunkte in dieser Zeit, deren Höhen sich jedoch insofern unterscheiden, als bei III und V das Maximum am 5. Tage, bei IV schon am 2. Tage erreicht wird. Darauf folgt vom 6. bis zum 18. Tage eine durch geringere Tagesschwankungen und Verweilen auf einer mittleren Höhe der Produktion ausgezeichnete Periode. Während dann bei III und IV das Absinken der Kurve mit gröfseren Tagesschwankungen einsetzt, findet sich bei V ein ebenmäfsiger Abfall. Weiterhin fällt bei V auf, dafs die CO_2-Produktion bei weitem nicht die Werte erreicht wie bei III und IV. Welche Einflüsse hierbei mitgespielt haben können, soll später bei Besprechung der Bakterienkurven erörtert werden.

Wenn somit die Vergleichung der drei CO_2-Kurven dieser Versuche eine verhältnismäfsig gute Übereinstimmung ihres Ablaufes untereinander ergibt, so fragt es sich doch, ob die Kurvenbilder denjenigen der beiden ersten Versuche ähnlich sind. Um dieses feststellen zu können, ist es notwendig, die CO_2-Werte auf die anfänglich vorhandene Nährbodenmenge (700 ccm) zu berechnen. Da täglich bei allen Versuchen durchschnittlich 15 ccm zu Keimzählungen entnommen wurden, so läfst sich diese Rechnung gut ausführen und mufs auch ein der Wirklichkeit sich annäherndes Zahlenmaterial ergeben. Allerdings ist dabei mit den durch die vielen Multiplikationen bedingten Fehlern zu rechnen.

In der nachfolgenden Übersicht sind die auf 700 ccm Nährboden berechneten CO_2-Werte der drei Versuche zusammengestellt. Der besseren Vergleichung wegen sind auch sie graphisch in die Figuren 3, 4 und 5 eingezeichnet und durch die obere gestrichelte Kurve dargestellt.

Versuchstage	Versuch III	Versuch IV	Versuch V
1	166,3	129,97	67,44
2	264,78	312,42	97,02
3	115,14	211,59	94,03
4	114,28	108,74	78,16
5	330,12	197,07	125,58
6	181,61	148,44	55,83
7	159,66	157,2	58,15
8	132,55	200,23	95,28
9	174,39	164,82	106,06
10	158,85	156,33	83,61
11	148,03	184,17	80,89
12	169,18	198,92	69,00
13	175,47	204,15	64,7

Versuchstage	Versuch III	Versuch IV	Versuch V
14	168,48	242,58	64,03
15	187,22	234,03	59,22
16	202,32	266,16	71,04
17	162,69	218,76	50,52
18	212,95	243,06	57,66
19	181,64	264,93	45,12
20	170,84	154,32	66,12
21	264,50	271,18	69,9
22	181,8	91,71	—
23	191,18	219,10	—
24	282,28	178,68	—
25	181,36	169,47	—

Ein Blick auf diese so korrigierten Kurven lehrt, daſs zwar im groſsen eine gewisse Ähnlichkeit mit den entsprechenden von I und II insofern besteht, als auf den ersten Anstieg ein ziemlich bedeutender Abfall folgt, an den sich ein erneutes Ansteigen fast in derselben Zeitperiode (11.—20. Tag) anschlieſst, daſs aber im einzelnen doch beträchtliche Abweichungen vorhanden sind. Die schon erwähnte Sonderstellung von V bleibt auch jetzt bestehen.

Auch die Zusammenfassung der Werte von 10 Tagen zur Gewinnung einer Gruppenkurve wie bei I und II stellt die Übereinstimmung nicht vollständig her; denn bei Versuch III sind in den ersten 10 Tagen 1797,68 mg CO_2, durchschnittlich 179,76 mg, in den zweiten 10 Tagen 1778,32 mg CO_2, durchschnittlich 177,832 mg CO_2, gebildet worden.

Bei IV sind die entsprechenden Werte

1786,81 mg . . . 178,68 mg CO_2
2211,98 » . . . 221,198 » »
bei V 861,16 » . . . 86,116 » »
628,90 » . . . 62,89 » »

Es würde bei III und V die stärkste CO_2-Bildung in der ersten Gruppe, bei IV dagegen in der zweiten liegen. Demnach

bestände nur bei Versuch IV eine Übereinstimmung mit Versuch I und II, während sie in erster Linie bei III zu erwarten gewesen wäre. Diese Abweichung der CO_2-Kurve von III würde gegen das Vorhandensein eines Typus sprechen, wie er bei I und II zum Ausdruck gekommen ist. Ich möchte ihr aber in Anbetracht dessen, dafs die Kurve nur durch grofse Umrechnungen gewonnen werden konnte, keine entscheidende Bedeutung beilegen.

Was nun den Ablauf der durch die Bakterienkurven gekennzeichneten Bakterienentwicklung anbetrifft, so läfst sich bei allen drei Versuchen ein ziemlich gleichmäfsiges typisches Verhalten erkennen. Auf den ersten bis zu 4 Tagen sich erstreckenden Anstieg der Bakterienzahlen folgt ein bis zum 11. bezw. 12. Tage reichender Abfall, an den sich dann ein erneuter, bis zum 16 bezw. 17. Tage reichender starker Anstieg mit dem Gipfel am 15. und 16. Tage anschliefst; darauf wiederum bedeutende Abnahme der Bakterienmenge. Betrachtet man weiterhin die Differenzen zwischen den hohen und niedrigen Keimzahlen, so läfst sich nicht verkennen, dafs sie ganz beträchtlich sind. So beträgt z. B. bei Versuch III die Bakterienmenge — es sind natürlich nur die Zahlen für den Kubikzentimeter berücksichtigt worden — am 16. Versuchstage das 59 fache von derjenigen am 7., bei Versuch IV die am 16. Versuchstage das 51 fache von der am 4. und bei Versuch V das 17 fache von der des 6. Versuchstages.

Es mufs für die Beurteilung solcher Unterschiede bei Keimzählungen allerdings zugegeben werden, dafs die gefundenen Werte von verschiedenen Faktoren abhängig sind. Wie schon in der Beschreibung der Versuchsanordnung hervorgehoben ist, liegt gerade bei der Keimzahlbestimmung des Staphylokokkus die Gefahr sehr nahe, dafs nicht einzelne Keime, sondern Haufen zur Aussaat gelangen. Das Ergebnis hätte daher nur einen relativen, aber niemals einen absoluten Wert. Aufserdem ist nicht zu verkennen, dafs auch die infolge der starken Verdünnung notwendigen Multiplikationen eine Rolle spielen. Wenn man aber dabei berücksichtigt, dafs alle diese Keimzählungen

mit peinlicher Genauigkeit und Gleichmäfsigkeit bei Herstellung der Verdünnungen und der Aussaaten ausgeführt sind, so glaube ich doch, dafs ihnen ein Wert namentlich in bezug auf die Vergleichung untereinander, weil immer dieselben Fehlerquellen vorhanden gewesen sind, nicht abgesprochen werden kann. Ferner brauche ich wohl kaum noch besonders zu betonen, dafs ein Fehler durch Verunreinigung auszuschliefsen ist, da durch tägliche Ausstriche auf Agarplatten die Reinheit der Kultur geprüft wurde. Selbst unter Berücksichtigung der Mängel und Ungenauigkeiten, die allen derartigen Keimzahlbestimmungen anhaften, kann man sich doch des Eindruckes nicht erwehren, dafs tatsächlich diese in den Kurven zum Ausdruck kommenden und bei allen drei Versuchen fast gleichmäfsig ausgefallenen Schwankungen der Bakterienzahl auf eine gewisse Periodizität in der Bakterienentwicklung schliefsen lassen. Es würde nach den Kurven auf die anfängliche starke Vermehrung ein schneller und über mehrere Tage sich erstreckender Abfall der fortzüchtungsfähigen Keime erfolgen, dem sich dann wiederum ein bedeutendes Anschwellen und ein erneutes plötzliches Absinken anschlösse. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu dem, was man nach theoretischen Überlegungen erwarten sollte; denn ist einmal die Zahl der Keime auf ihrem Höhepunkte angelangt, so können die einsetzenden hemmenden oder abtötenden Einflüsse (Stoffwechselprodukte) kaum eine so plötzliche Wirkung ausüben, dafs die Zahl der lebenden Keime so tief heruntersinkt. Wenn sie aber wirklich diese Wirkung haben sollten, dann ist nicht einzusehen, warum dieselbe nach einigen Tagen wieder schwindet. Es wäre allerdings daran zu denken, dafs es sich um flüchtige Produkte handelt, die nach einiger Zeit durch Verdunstung entweichen. Irgendwelche Anhaltspunkte für diese Annahme habe ich aber nicht finden können. Die Möglichkeit einer solchen äufseren Ursache mufs jedoch offen gelassen werden. Ein derartiger in Perioden vor sich gehender Ablauf des Lebens einer Bakteriengeneration würde aufserdem nicht unbedingt mit den Naturgesetzen in Widerspruch stehen. Man kann sich vorstellen, dafs nach der intensiven Lebenstätigkeit

der Bakterien, wie sie in der schnellen Vermehrung zum Ausdrucke kommt, ein Zustand der Erschöpfung, ja auch ein Absterben einzelner Individuen eintritt. Erst nachdem sich die Zelle durch eine Ruhezeit wieder regeneriert hat, ist sie zu erneuter Fortpflanzung befähigt. Die Entscheidung darüber, ob diese periodische Entwicklung in äufseren Einflüssen oder in der Organisation der Zellen ihre Ursache hat, läſst sich heute mit Sicherheit nicht geben. Allein die Tatsache, daſs sie vorkommt, würde eine wesentliche Erweiterung unserer Kenntnisse über das Bakterienleben bedeuten, zumal wenn sie sich durch Nachprüfungen bestätigen und auch bei anderen Bakterienarten feststellen lieſse. Ich will hier noch als eine Bestätigung dieser Periodizität anführen, daſs Winter[1]) bei seinen Arbeiten über Ruhrbazillen ähnliche Schwankungen in der Bakterienzahl beobachtet hat.

Was nun das Verhältnis der täglich bestimmten Bakterienmasse zu der gemessenen CO_2-Menge anlangt, so ist schon bei der Beschreibung der Bakterienkurve gesagt worden, daſs nach der Einsaat Bakterien- und CO_2-Kurven scheinbar gleichlaufend sind, daſs aber später, namentlich bei dem 2. Anstieg der Bakterienmenge um den 15. Versuchstag herum, die CO_2-Bildung dem Anwachsen der Bakterienmasse nicht entspricht und daſs an einzelnen Tagen Anstieg und Abfall der beiden Kurven entgegengesetzt gerichtet sind. Einen besseren Einblick in die Beziehungen beider Kurven zueinander erhält man jedoch, wenn man die CO_2-Mengen und die Bakterienzahlen nach den aus den Kurven sich ergebenden Gruppen zusammenfaſst, den täglichen Durchschnitt innerhalb der einzelnen Gruppen bestimmt und die durchschnittliche CO_2-Menge und Bakterienzahl von 1 ccm in ein Verhältnis bringt.

Dividiert man die durchschnittliche tägliche Keimzahl von 1 ccm durch die durchschnittliche tägliche CO_2-Menge, so erhält man ein Zahlenverhältnis, welches angibt, wie viel Keime in 1 ccm innerhalb der einzelnen Gruppen auf 1 mg CO_2 kommen würden. Nachstehende Übersicht enthält die gefundenen Zahlen.

1) Vgl. Bemerkung S. 174.

Versuch III.

Der 5. und 6. Tag konnte wegen Fehlens der Keimzahl nicht berücksichtigt werden.

Zusammengefafste Tage	Durchschnittliche tägliche CO_2-Menge in mg	Durchschnittliche tägliche Keimzahl im ccm	Verhältnis der CO_2-Menge zur Bakterienzahl im ccm $CO_2 = 1$.
1.—4.	157,125	1 045 400 000	1 : 6 652 659
7.—10.	127,79	68 600 000	1 : 536 818
11.—17.	121,06	808 542 000	1 : 6 678 854
18.—24.	115,432	482 214 000	1 : 4 177 472

Versuch IV.

1.—4.	178,56	162 700 000	1 : 911 178
7.—12.	140,69	239 866 000	1 : 1 704 925
13.—19.	156,82	733 870 000	1 : 4 679 696
20.—24.	96,816	197 420 000	1 : 2 039 125

Versuch V.

1.—4.	79,595	920 040 000	1 : 11 559 756
7.—12.	63,12	235 480 000	1 : 3 730 671
13.—19.	44,82	413 300 000	1 : 9 221 329
20.—24.	34,176	58 300 000	1 : 1 705 805

Betrachtet man diese Verhältniszahlen der drei Versuche, so findet man die zahlenmäfsige Bestätigung dessen, was oben bereits ausgesprochen ist, nämlich dafs Bakterien- und CO_2-Kurven nicht gleichlaufend sind. Aufserdem läfst sich die bemerkenswerte Tatsache erkennen, dafs, wenn die Vermehrungstätigkeit der Zellen sehr lebhaft ist, die CO_2-Bildung verhältnismäfsig gering bleibt und umgekehrt, dafs beim Tiefstande der Bakterienzahl eine verhältnismäfsig starke CO_2-Produktion vorhanden ist. Eine Ausnahme macht nur die erste Gruppe in Versuch IV. Ob es sich hierbei um eine Zufälligkeit handelt oder der Einflufs des Gipsgehaltes zur Geltung gekommen ist, will ich unentschieden lassen.

Es würde jedoch diese eine Ausnahme die Gesetzmäfsigkeit in den beiden anderen Versuchen nicht hinfällig machen.

Gegen das tatsächliche Bestehen eines derartigen Verhältnisses der CO_2-Menge zu der Zahl der sie erzeugenden Bakterien könnte

man einwenden, dafs es eine Folge der bei der Keimzahlbestimmung angewandten Methode sei. Durch derartige Keimzählungen würden zwar die fortzüchtungsfähigen Keime bestimmt, nicht aber die noch lebenden, nicht fortzüchtungsfähigen. Abgesehen davon, dafs es überhaupt fraglich ist, ob es lebende, nicht fortzüchtungsfähige Keime gibt, ist weiterhin sehr unsicher, wenn man wirklich mit ihrem Vorkommen rechnet, ob ihnen in diesem Zustande ein praktisch in Betracht kommender Stoffwechsel überhaupt zukommt. Ich möchte hier die Beobachtung anführen, die Burchard[1]) bei der Untersuchung der Harnstoffzersetzung durch den Micrococcus ureae liquef. gemacht hat. Bei einem seiner Versuche zeigten nach der 144. Stunde die Aussaaten kein Wachstum mehr, während gleichzeitig auch die Harnstoffzersetzung aufhörte. Wurde nun der klare, über dem Bakteriensediment stehende Harn abgegossen und frischer Harn zugefüllt, so trat wieder reichliche Bakterienentwicklung auf. Burchard glaubt, aus dem von neuem einsetzenden Bakterienwachstum bei Zusatz von frischem Nährboden den Schlufs ziehen zu können, dafs der Harnstoffspalter in der alten, mit Stoffwechselprodukten angereicherten Kulturflüssigkeit in ein Ruhestadium übergegangen sei, aus dem er durch den neuen Nährboden wieder erweckt sei. Ich will hier nicht darauf eingehen, ob nicht in dem Sediment doch noch einige lebende Keime vorhanden waren, die bei der geringen Aussaatmenge mittels einer Platinöse der Entdeckung entgehen konnten. So viel geht jedenfalls doch aus diesem Versuche hervor; dafs der Micrococcus ureae liquef. im Ruhestadium eine mefsbare Harnstoffzersetzung nicht bewirken konnte. Im allgemeinen gilt aber doch wohl für die vegetativen Bakterienformen der Satz, dafs mit dem Aufhören der Fortzüchtungsfähigkeit auch die Lebenstätigkeit erloschen ist.

Wenn mithin der Abfall der Bakterienmenge beim Staphylokokkus durch das sogenannte Ruhestadium eines Teiles derselben bedingt wäre, so kämen die Bakterien nach Analogie der Burchardschen Beobachtung wenig oder überhaupt nicht für die CO_2-Bildung in Frage. Man ist demnach doch wohl zu der

1) Arch. f. Hyg., Bd. 36, S. 271.

Annahme genötigt, dafs sich tatsächlich die CO_2-Produktion des Einzelindividuums in der Periode der Vermehrungsverlangsamung steigert.

Auch der Einwand, dafs diese eigentümliche Erscheinung durch äufsere Verhältnisse — Zusammenfallen einer erhöhten CO_2-Abgabe aus der Kulturflüssigkeit infolge von Temperatursteigerungen und Erniedrigung des Luftdruckes — bedingt sei, dürfte im Ernste wohl kaum geltend gemacht werden können.

Weiterhin dürfte es von Interesse sein, die Schnelligkeit der Vermehrung und die Teilungszeit einer näheren Untersuchung zu unterziehen. Ich will dabei nur auf die in den ersten 24 Stunden zur Entwicklung gelangten Keimmengen eingehen, weil die erste Zeit nach der Einsaat noch die einfachsten Verhältnisse darbietet.

Man kann nach allem, was wir wissen, wohl annehmen, dafs zu Beginn der Bakterienentwicklung die Vermehrung in Form einer geometrischen Reihe vor sich geht; aus 2 Keimen werden 4, aus 4 8, 16 32 u. s. w. Der Quotient (q) dieser Reihe würde 2 sein. Das Anfangsglied (a) ist durch die Einsaat bestimmt und das Endglied (u) durch die Keimzählung nach 24 Stunden gefunden. Es ist natürlich bei dieser Berechnung die Voraussetzung zu machen, dafs während dieser Zeit alle zur Entwicklung kommenden Keime lebens- und fortzüchtungsfähig bleiben — eine Annahme, die aller Wahrscheinlichkeit nach an den späteren Versuchstagen nicht mehr zutreffend ist.

Wenn man mit x die Zahl der gesuchten Glieder der Reihe bezeichnet, so würde sich x aus der Formel:

$u = a \cdot q\, x—1$ berechnen lassen.

$$q\, x—1 = \frac{u}{a}$$

$$(x—1) \log q = \log u — \log a$$

$$x = 1 + \frac{\log u — \log a}{\log q.}$$

Bei Versuch III würde bei einem Keimgehalte von 10150 Keimen in 1 ccm nach der Einsaat und einer Vermehrung auf 729600000 nach 24 Stunden eine 17,13malige Teilung erfolgt sein.

Versuch IV. Im Beginn 9840 Keime, nach 24 Stunden 209000000, demnach eine 15,37 malige Teilung.

Versuch V: Im Beginn 9580 Keime nach 24 Stunden 270 720 000 demnach eine 15,78 malige Teilung.

Es ergibt sich also eine Teilungszeit der Keime:

in	1,40 Stunden	bei	Versuch	III
»	1,56 »	»	»	IV
»	1,52 »	»	»	V

Der Versuch, durch direkte Beobachtung im hängenden Tropfen unter dem Mikroskop auf heizbarem Objekttische diese Zeiten bestätigen zu können, mifslang, da infolge der durch die Erwärmung in der Flüssigkeit entstehenden kleinen Strömungen eine andauernde ununterbrochene Beobachtung des einzelnen Keimes notwendig war, um ihn nicht aus dem Auge zu verlieren.

Entsprechend der in den beiden ersten Versuchen unternommenen Bestimmung der Arbeitsleistung der Mikrokokken durch Berechnung der Gesamternte am Schlusse, will ich auch die Leistungen der lebenden, fortpflanzungsfähigen Keime in diesen drei Versuchen in bezug auf die CO_2-Bildung feststellen.

Die oben angeführten Übersichten über das Verhältnis der gebildeten CO_2-Menge zu der in 1 ccm vorhandenen Bakterienzahl lassen im allgemeinen ersehen, dafs starke Vermehrung der Bakterien und CO_2-Bildung einander nicht proportional sind und dafs auch während des Ruhestadiums der Bakterien eine verhältnismäfsig hohe CO_2-Produktion bestehen bleibt. Will man nun eine Vorstellung von der Arbeitsleistung der Kokken gewinnen, dann ist es notwendig, die verschiedenen Stadien bei der Bakterienentwicklung zu berücksichtigen. Man müfste demnach die Arbeitsleistung in bezug auf die CO_2-Bildung in der Zeit der Vermehrung und des Absinkens der Bakterienzahlen bestimmen.

Infolge der Schwierigkeiten, welche die Umrechnung der Bakterienmenge von 1 ccm auf die Gesamtmasse des ganzen Nährbodens an den späteren Versuchstagen macht, mufste ich davon absehen, in den einzelnen Entwicklungsperioden die Leistung zu berechnen. Ich will mich damit begnügen, bei den drei Versuchen nur die Anfangsleistung in den ersten 24 Stunden festzustellen.

Um 1 mg CO^2 in 24 Stunden zu bilden, sind in Versuch III 3069800000, in Versuch IV 1125500000, in Versuch V 2708700000 Keime nötig gewesen. Berechnet man zur Vergleichung mit diesen Werten den entsprechenden aus Versuch II, so ergibt sich: Gebildet waren 6717,59 mg CO_2 von 8248 mg Bakterienmasse, 1 mg CO_2 daher von 0,8144 mg.

Auf 1 mg Staphylokokkenpilzrasen kommen nach der ausgeführten Zählung 1086170211, demnach auf 0,8144 mg = 884577019 Keime. Nach dieser Zahlenzusammenstellung wäre bei Versuch II zwar eine geringere Bakterienmenge zur Produktion von 1 mg CO_2 als bei den anderen drei Versuchen nötig gewesen. Wenn man aber bei der Beurteilung die oben erwähnten Überlegungen berücksichtigt, nach denen bei II wahrscheinlich die Ernte infolge Fehlens der zugrunde gegangenen Individuen zu niedrig angegeben ist, und weiter in Betracht zieht, dafs bei III, IV und V nur die Anfangsleistung ohne Berücksichtigung der späteren Schwankungen herangezogen ist, so mufs man doch zugeben, dafs die gefundenen, auf die Arbeitsleistung für 1 mg CO_2 berechneten Bakterienmengen eine verhältnismäfsig gute Übereinstimmung aufweisen.

Es erübrigt sich noch, kurz auf den Einflufs des Gips- und Marmorzusatzes auf die CO_2-Bildung und das Bakterienwachstum einzugehen.

Es war denkbar, dafs durch Zersetzung der Eiweifskörper so reichliche Mengen von Ammoniak gebildet würden, dafs die daraus folgende starke alkalische Reaktion des Nährbodens eine Wachstumshemmung und Verminderung der Kohlensäureproduktion bewirkte. Bei Gegenwart der zugesetzten Gipsmenge konnte in der Kulturflüssigkeit keine oder nur eine schwache Alkaleszenz auftreten, da das Ammoniak in Form des schwefelsauren Ammoniaks vorhanden war. Die Vergleichung der bei IV gebildeten CO_2- und Bakterienmengen mit denen von III ergibt, dafs allem Anscheine nach eine günstige Wirkung des Gipszusatzes festzustellen ist. Es lassen sich die in III und IV gebildeten Gesamt-CO_2-Mengen gut gegenüberstellen, da einmal die Verringerung des Nährbodens durch die Flüssigkeitsentnahmen eine

gleichmäſsige und ferner auch die Bakterieneinsaat annähernd dieselbe war. Im ganzen wurden in den 25 Versuchstagen bei III 2997,7 mg, bei IV 3150,97 mg CO_2 gebildet, also mehr 153,27 mgr CO_2.

Wenn man dagegen die in 1 ccm gezählten Mikrokokken vergleicht, so überwiegen die bei III gefundenen Werte. Man könnte danach annehmen, daſs der Gipszusatz die Arbeitsleistung gesteigert hätte. Ein Teil des Gipses fand sich am Schlusse des Versuches in der Kulturflüssigkeit gelöst. Bei einer Aschebestimmung fand ich in 100 ccm Nährboden 0,086 g CaO, das Kalzium als Oxalat gefällt und als Oxyd gewogen. Ob dem Gipszusatze tatsächlich diese fördernde Wirkung zuzuschreiben ist, möchte ich nach diesem einen Versuche nicht entscheiden, sondern weitere Untersuchungen vorbehalten.

Im Gegensatze zu dem Gipszusatze scheint derjenige von Marmor keinen günstigen Einfluſs auf die CO_2-Bildung ausgeübt zu haben. In den 21 Tagen wurden bei V nur 1116,2 mg CO_2 gebildet, wesentlich weniger als bei III und IV. Die täglichen Durchschnittszahlen zeigen diesen Unterschied sehr deutlich: III 119,9, IV 126 und V 53,15 mg CO_2. Daſs bei dem Wachstum des Staphylokokkus in Peptonbouillon ohne Zuckerzusatz eine stärkere schädigende Säurebildung auftreten würde, war von vornherein nicht zu erwarten. Es konnte die Gegenwart von kristallinischem Kalziumkarbonat völlig indifferent sein oder vielleicht als ein Reizmittel auf die Bakterientätigkeit einwirken. Das Bakterienwachstum war, wenn auch nicht so üppig wie bei III und IV, doch immerhin gut zu nennen, namentlich am Anfang. Die Verhältniszahlen in der betreffenden Übersicht zeigen, daſs fast die doppelte Bakterienmenge wie bei IV nötig war, um 1 mg CO_2 zu bilden. Von dem vorhandenen Kalziumkarbonat waren nach dem Ergebnisse der Aschebestimmung nur Spuren in Lösung übergegangen, eine nennenswerte Säurebildung hatte demnach nicht stattgefunden. Erwähnen will ich jedoch noch, daſs die Reaktion dieser Versuchsbouillon bei Beginn fast neutral war und daſs diesem Umstande möglicherweise eine Bedeutung für das abweichende Ergebnis des Versuches V zukommt.

Im folgenden will ich einige Versuche mitteilen, die in derselben Anordnung ausgeführt wurden wie die vorher angeführten, bei denen jedoch der Peptonbouillon ein Zusatz von Traubenzucker gegeben wurde. Es ist bekannt, dafs der Staphylokokkus in zuckerhaltigen Nährböden ziemlich kräftig Säure bildet, und dafs die Säurebildung solchen Grad erreichen kann, dafs dadurch zuerst das Wachstum gehemmt und schliefslich auch eine Abtötung der Keime bewirkt wird. Smith[1]) gibt an, dafs in einer 1 proz. Milchzuckerbouillon schon nach 10—14 Tagen ein Absterben der Staphylokokken infolge der Säurebildung erfolgt. Es war nach diesen Erfahrungen zu erwarten, dafs die Versuche bereits nach kurzer Zeit beendet sein würden. Zunächst habe ich bei einem Versuch den Ablauf der Kohlensäureproduktion ohne besondere Berücksichtigung der Zahl der lebenden Keime festgestellt. Zur Ausführung wurden 500 ccm einer2 proz. Traubenzucker-Peptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion benutzt. Die gefundenen Werte sind in der folgenden Übersicht zusammengestellt, und zwar enthält Spalte 1 die täglich gemessenen CO_2-Mengen und Spalte 2 die 24 stündigen, nach der stündlichen Leistung berechnet. Die täglichen Durchlüftungsgröfsen wurden unberücksichtigt gelassen, da nach den Ergebnissen der früheren Untersuchungen eine ins Gewicht fallende Beeinflussung der Kohlensäureproduktion ihnen nicht zukommt.

Wie bei Versuch I und II wurde die aus dem Versuchskolben austretende Luft über konzentrierte Schwefelsäure geleitet, um das möglicherweise gebildete flüchtige NH_3 zu binden. Die graphische Darstellung der in Spalte 2 enthaltenen 24 stündigen Werte befindet sich in Figur 6.

Der Ablauf der CO_2-Bildung gestaltete sich in diesem Versuche im einzelnen folgendermafsen: In den ersten Tagen tritt ein gleichmäfsiges schnelles Ansteigen der CO_2-Menge ein, darauf fällt die Kurve bis zum 6. Tage ebenso gleichmäfsig ab bis auf ungefähr den 5. Teil des am 2. Tage erreichten Höchstwertes. Vom

[1]) Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. III, S. 117.

7. Tage setzt ein frischer fast ebenso starker Anstieg wie zu Anfang ein, dem gleichfalls ein steiler Abstieg bis zum 15. Tage folgt. Vom 16. Tage ab sinkt die Kurve dann langsam und gleichmäfsig, nur am 27. Tage noch von einem kleineren Anstieg unterbrochen, bis zum Aufhören der CO_2-Bildung am 33. Tage. Dieser Ablauf der Kohlensäureproduktion läfst deutlich drei gröfsere Perioden erkennen. Die erste reicht vom 1. bis 6. Tage, die zweite vom 7. bis 14. und die dritte umfafst den Schlufs des Versuches vom 15. bis 33. Tage. Während die beiden ersten Perioden durch je einen steilen Anstieg und Abfall charakterisiert sind, zeigt die Schlufsperiode, abgesehen von der kleinen Erhebung am 27. Tage, in der Hauptsache das langsame Absinken der CO_2-Produktion.

Versuch VI.

500 ccm 2 proz. Traubenzuckerlösung von schwach alkalischer Reaktion.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg
1	181,5	198,0	18	51,92	58,56
2	260,48	270,72	19	36,08	38,88
3	138,16	201,6	20	36,08	37,15
4	158,4	158,4	21	36,08	36,08
5	67,76	90,24	22	31,68	34,32
6	54,56	53,88	23	15,84	23,76
7	67,76	70,32	24	31,68	31,22
8	190,52	207,36	25	27,28	23,28
9	228,8	259,44	26	13,64	18,16
10	222,2	231,84	27	56,76	52,32
11	210,76	219,36	28	25,08	31,68
12	145,2	199,68	29	20,24	20,78
13	176,88	150,0	30	11,44	12,21
14	74,8	78,0	31	11,44	12,19
15	63,36	67,68	32	9,06	7,75
16	54,56	76,32	33	3,39	4,24
17	61,16	58,32			

Einen besseren Überblick über diese Periodizität und den Ablauf der sich daraus ergebenden CO_2-Kurve erhält man, wenn man wiederum je 7 Tage, wie es ähnlich auch schon in den

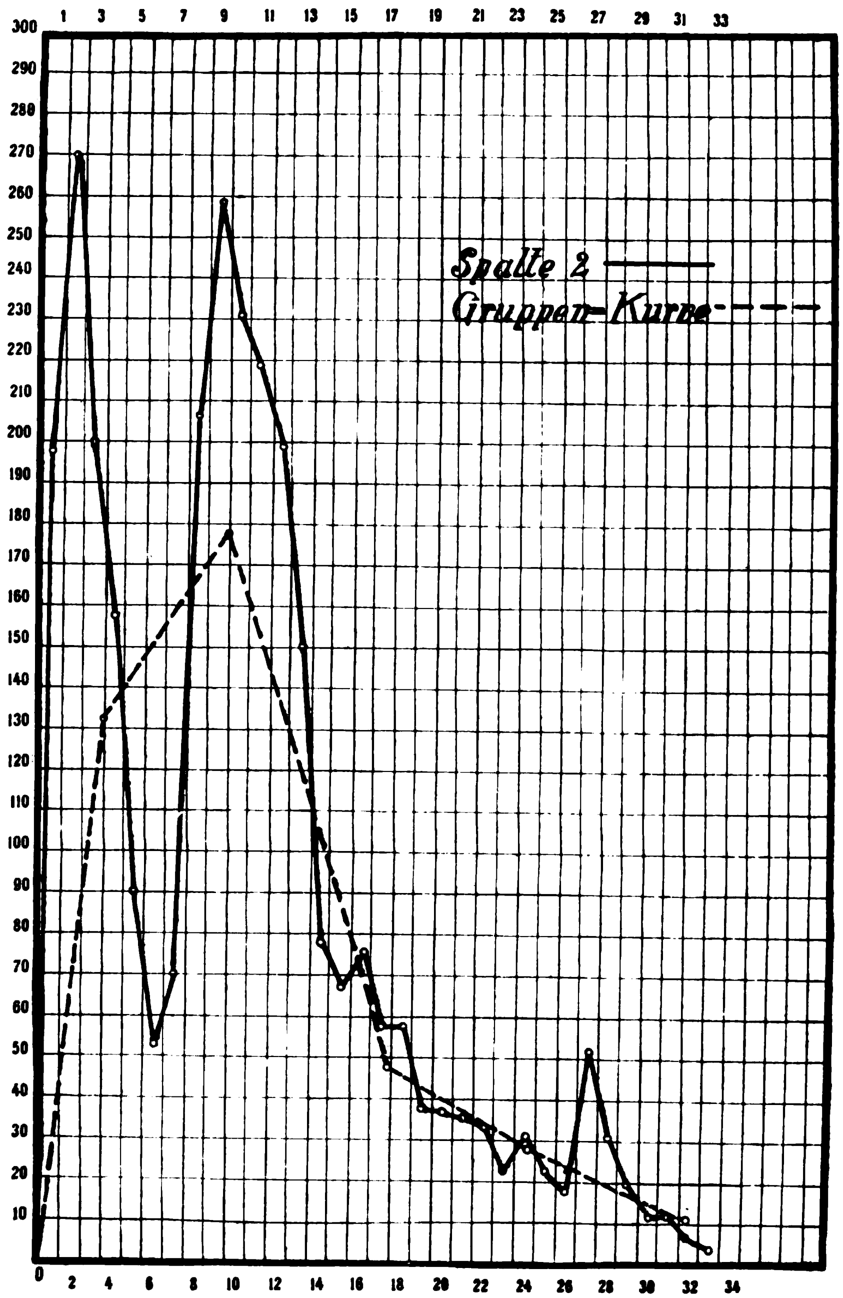

Spalte 2
Gruppen-Kurve
300
290
280
270
260
250
240
230
220
210
200
190
180
170
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1 3 5 7 9 11 13 15 17 19 21 23 25 27 29 31 33
2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34

Fig. 6.

früheren Versuchen geschehen ist, zu einer Gruppe zusammengefaſst und den Durchschnitt dieser Gruppen berechnet. Zur Gewinnung dieser Kurve sind von den CO_2-Werten der Spalte 1 je 7 Tage zusammengezogen und der tägliche Durchschnitt bestimmt. Die Gruppendurchschnittswerte sind ebenfalls in Figur 6 graphisch eingezeichnet.

Tage	Gesamt-CO_2-Menge in mg	Täglicher Durchschnitt in mg	Gruppen-differenz
1.—7.	928,62	132,66	+ 45,79
8.—14.	1249,16	178,45	— 129,99
15.—21.	339,24	48,46	— 19,61
22.—28.	201,96	28,65	— 17,74
29.—33.	55,57	11,114	—

Nach dieser Kurve ist die CO_2-Bildung mit der zweiten Periode in der Zeit vom 8. bis 14. Tage durchschnittlich am höchsten gewesen. In der dritten, vom15. bis 21. Tage, setzt dann der starke bis zum Schlusse anhaltende Abfall der CO_2-Werte ein. Die Differenzen der Gruppendurchschnittswerte sind aus der letzten Spalte ersichtlich (+ bedeutet den Zuwachs, — die Abnahme). Die Ähnlichkeit dieser Kurve mit der entsprechenden von Versuch I und II ist unverkennbar, ich will jedoch darauf erst später bei Besprechung der anderen Kurven näher eingehen.

Die Gesamtmenge der in den 33 Tagen gebildeten Kohlensäure betrug 2774,55 mg, das entspricht einer täglichen Durchschnittsleistung von 84,077 mg CO_2. Berechnet man danach die während des Versuches zu CO_2 oxydierten Kohlenstoffmengen, so ergeben sich als die entsprechenden Werte 756,69 und 22,93 mg C.

In der zur Absorption des gebildeten flüchtigen Ammoniaks vorgelegten Schwefelsäure lieſs sich NH_3 nicht nachweisen; ein Beweis dafür, daſs alles flüchtige NH_3 zur Abstumpfung der entstandenen Säure verbraucht worden war. Die Bestimmung der in der Kulturflüssigkeit enthaltenen Ammoniakverbindungen durch Destillation mittels Natrium carbonat wurde nicht ausgeführt. Ferner habe ich versucht, nach der bei Versuch II näher erläu-

terten Methode die Gesamtbakterienernte zu bestimmen. Es wurden für 100 ccm Nährboden als Differenz zwischen der bakterienhaltigen und keimfrei filtrierten Kulturflüssigkeit 27,13 mg N gefunden, die als Bakteriensubstanz in Rechnung zu setzen sind. Da 500 ccm vorhanden waren, so würden als Bakterienernte $27{,}13 \times 5 = 135{,}65$ mg N in Betracht kommen. 1 mg eines nicht getrockneten 24 stündigen Staphylokokkenpilzrasens, auf Agar gezüchtet, liefert 0,02249 mg N, demnach würde eine Ernte von 135,65 mg N einer feuchten Bakterienmasse von 6,031 g entsprechen. Von 1 g Bakterienmasse wären demnach in 33 Tagen 0,125 g C zu CO_2 oxydiert worden, oder täglich 0,00378 g.

Die folgenden drei Versuche, VII, VIII und IX sind analog den besprochenen Versuchen III, IV und V angestellt. Es sollte durch sie das Verhältnis der gebildeten Kohlensäure zu der vorhandenen lebenden und fortzüchtungsfähigen Bakterienmenge ermittelt werden. Die in IV und V verwendeten Zusätze von Gips und Marmor wurden jedoch weggelassen. Ferner ist zu erwähnen, dafs diese Versuche nicht gleichzeitig angestellt wurden, sondern nacheinander, und dafs damit im Zusammenhange stehend auch zu verschiedenen Zeiten bereitete Bouillon zur Verwendung kam. Während bei Versuch VII ein Zusatz von 3% Traubenzucker gewählt wurde, erhielt die Bouillon von VIII und IX nur 2%.

Versuch VII.

700 ccm 3 proz. Traubenzuckerpeptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Keimzahl in 1 ccm Einsaat 9 840.
1	127,2	127,2	209 800 000
2	97,68	260,48	52 000 000
3	96,8	96,8	2 000 000
4	67,8	67,8	Platten verunglückt
5	53,84	53,84	» »
6	31,5	30,24	2 000
7	0	—	95
8	0	—	220

Versuch VIII.

700 ccm einer 2 proz. Traubenzuckerpeptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Keimzahl im ccm Einsaat 902	Reaktion des entnommenen Nährbodens
1	115,72	131,30	226 500 000	neutral
2	161,04	168,0	75 733 000	neutral — schwach sauer
3	147,4	152,88	58 250 000	schwach sauer
4	97,24	133,68	30 730 000	deutlich sauer
5	147,4	124,99	1 630 000	» »
6	77,00	80,32	1 516 000	stark sauer
7	102,08	109,12	2 500 000	» »
8	81,4	113,76	300 000	» »
9	68,2	65,04	45 000	» »
10	56,76	63,84	1 400	» »

Versuch IX.

700 ccm 2 prozentiger Traubenzuckerpeptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Keimzahl im ccm Einsaat 5275	Reaktion des entnommenen Nährbodens
1	17,6	17,6	9 500 000	neutral
2	136,4	145,68	268 750 000	»
3	264,0	325,68	611 200 000	sauer
4	149,6	154,08	934 500 000	»
5	189,2	194,88	894 250 000	»
6	145,2	150,48	98 300 000	stark sauer
7	92,4	109,92	2 650 000	» »
8	96,8	100,32	1 000 000	» »
9	26,4	27,12	—	—

Die graphischen Aufzeichnungen der CO_2- und Bakterienkurven sind auf Figur 7, 8 und 9 enthalten. Für diese drei Versuche will ich hier gleich bemerken, dafs NH_3 in der vorgelegten Schwefelsäure ebenso wie in Versuch VI nicht nachgewiesen werden konnte.

Versuch VII.

Die CO_2-Kurve erhebt sich in den ersten beiden Tagen bis zum Gipfel und fällt dann steil und gleichmäfsig bis zum Schlusse am 6. Tage ab. Dasselbe Bild zeigt die Bakterienkurve allerdings mit dem Unterschiede, dafs die Höchstzahl der Bakterien bereits am 1. Tage erreicht wird. Am 3. ist sie schon auf 2000000 im Kubikzentimeter herabgesunken. Am 4 und 5. Tage konnte leider keine Bestimmung ausgeführt werden.

Ich habe diesen Versuch trotz Aufhörens der CO_2-Bildung am 7. Tage, bis zum 20. Tage weitergeführt. Es wäre nämlich denkbar, dafs später, nachdem sich vielleicht die lebenskräftigsten Bakterien der veränderten Reaktion des Nährbodens angepafst hätten, von neuem eine stärkere Bakterienentwicklung und auch Kohlensäurebildung zustande gekommen wäre. Ein völliges Absterben trat während der 20tägigen Versuchszeit nicht ein. Durch Aussaat von $^1/_2$—1 ccm der unverdünnten Kulturflüssigkeit liefsen sich immer noch lebende Keime nachweisen unter Schwankungen von 500 bis 2000 im Kubikzentimeter. Eine mefsbare Kohlensäureproduktion war jedoch nicht mehr vorhanden.

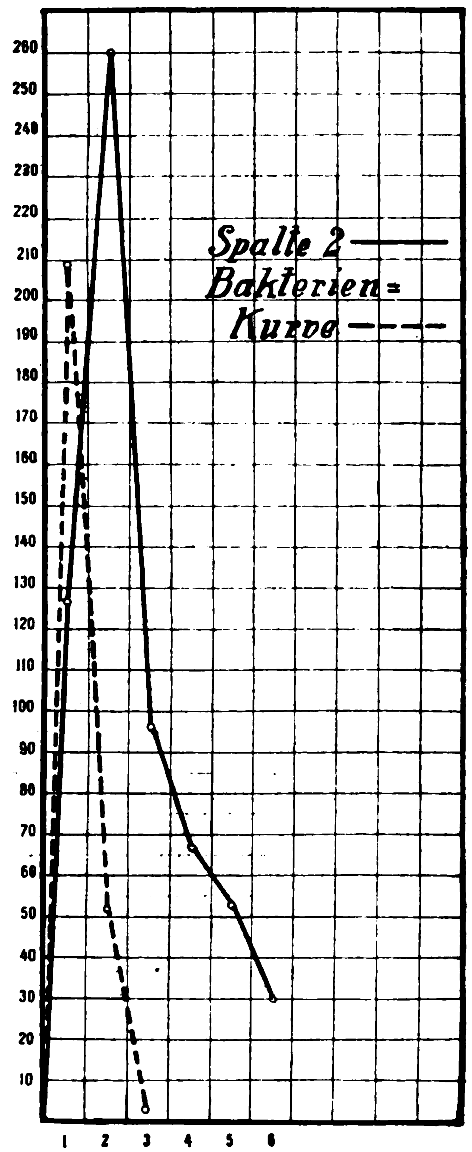


Fig. 7.

Versuch VIII. (Figur 8.)

Anstieg der CO_2-Kurve wie bei VII. Der Abfall erfolgt bis zum 6. Tage gleichmäfsig, darauf zeigt sich am 7. und 8. Tage von neuem ein kleiner Anstieg, an den sich dann ein ebenmäfsiges Absinken bis zum Schlusse des

Versuches am 11. Tage anschliefst. Die Bakterienkurve erreicht ihren Höhepunkt bereits am 1. Tage und fällt dann gleichmäfsig und steil bis zum 5 ab. Am 7. Tage, dem zweiten Anstieg der CO_2-Kurve entsprechend, findet sich noch eine ganz geringe Erhebung um 1 000 000 im Kubikcentimeter und dann sinkt sie schnell bis zum Schlusse ab.

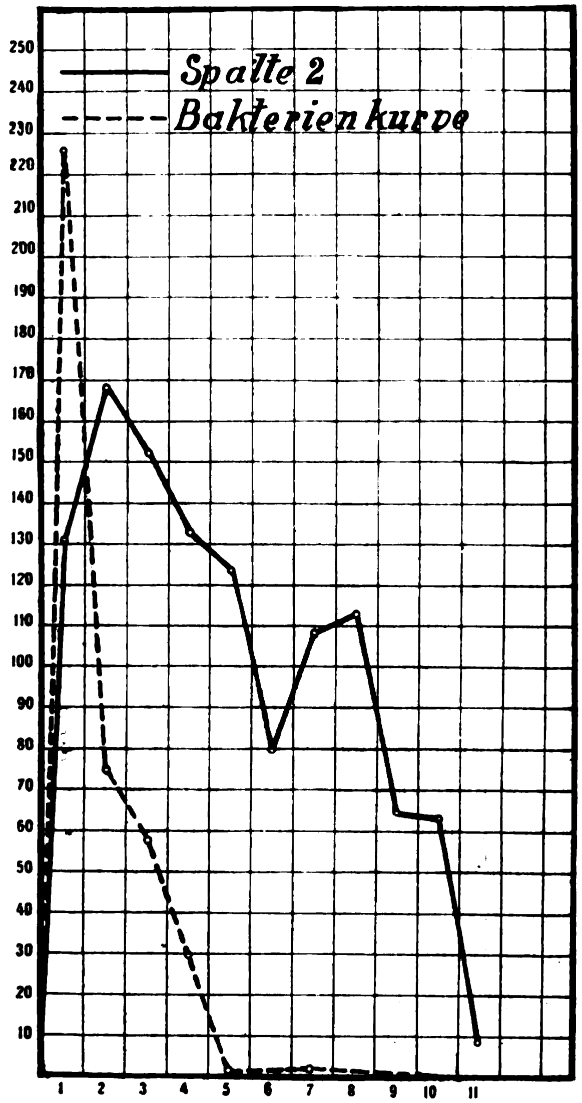


Fig. 8.

Versuch IX. (Figur 9.)

Bei diesem Versuche ist eine Verzögerung des Anstieges der CO_2-Kurve vorhanden; der Gipfel wird erst am 3. Tage erreicht. Der sich daran anschliefsende schnelle Abfall wird durch ein geringes Ansteigen der Kurve

am 5. Tage unterbrochen. Die Kohlensäureproduktion war am 9. Tage beendet. Die Bakterienkurve zeigt einen entsprechenden Verlauf in Bezug auf die Verzögerung des Anstieges. Die Höchstzahl der Keime wird erst am 4. Tage erreicht und hält sich fast in derselben Höhe bis zum 5. Darauf folgt ein sehr steiler ununterbrochener Abfall bis zum 7. Tage.

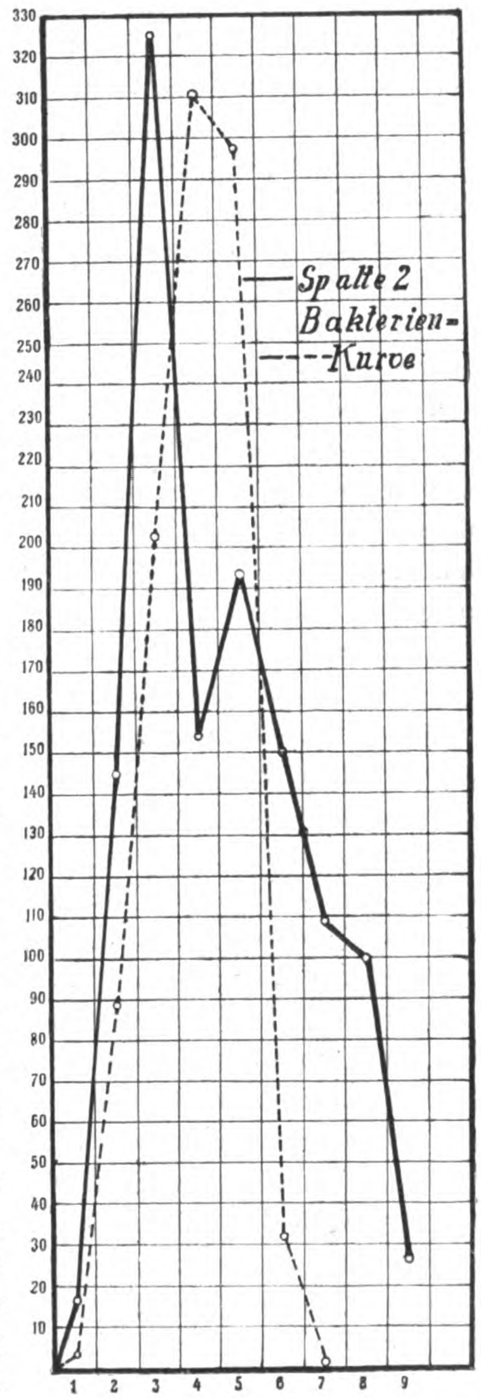


Fig. 9.

Vergleicht man die CO_2-Kurven dieser drei Versuche miteinander, so läſst sich eine groſse Übereinstimmung im Ablauf feststellen. Auf ein sehr schnelles Emporschnellen der Kohlensäureproduktion folgt ein Absinken derselben, das sich allerdings bei den einzelnen Versuchen etwas verschieden gestaltet. Während bei VII der absteigende Schenkel keine Unterbrechung durch Anstieg zeigt, ist eine solche bei VIII und IX vorhanden. Auch hört bei VII die CO_2-Produktion wohl infolge des gröſseren Traubenzuckergehaltes der Nährbouillon eher auf. Bei VIII scheint das langsamere Absinken eine Folge der schwächeren Anfangserhebung der CO_2 Bildung zu sein; der Einfluſs der Säurebildung ist nicht so schnell zur Geltung gekommen. Worauf die Verzögerung der CO_2-Bildung und

auch der Bakterienentwicklung in Versuch IX beruht hat, habe ich nicht feststellen können; an dem Gesamtbilde der Kurven wird durch dieses Verhalten nichts geändert.

In gleicher Weise stimmen auch die Bakterienkurven überein. Solange der Nährboden noch eine neutrale bis schwach saure Reaktion hat, steigt die Bakterienentwicklung an. Mit der fortschreitenden Säuerung sinkt die Zahl der Keime schnell ab und hält sich auf einem Minimum, dem eine bemerkbare Lebensäufserung in Bezug auf die Kohlensäureproduktion nicht mehr zukommt. Nach dem Ergebnis der Keimzählung bei Versuch VII bin ich der Überzeugung, dafs sich eine Reihe von Bakterien in diesem stark sauren Nährboden noch viel länger als 20 Tage fortzüchtungsfähig halten. Es kommt bei ihrem Nachweise nur darauf an, dafs man sich nicht mit der in einer Platinöse enthaltenen Nährbodenmenge begnügt, sondern gröfsere Aussaaten macht.

Es fragt sich nun, wie sich der in Versuch VI gefundene CO_2-Ablauf mit demjenigen dieser drei Versuche vereinigen läfst. Trotzdem der Traubenzuckergehalt, die sonstigen Zutaten zur Nährbouillon und die Versuchsanordnung bei VI, VIII und IX gleich waren, dauerte die CO_2-Bildung bei VI 33 Tage, die bei den beiden andern Versuchen nur 10 bzw. 9 Tage. Aufserdem zeigt die CO_2-Kurve von VI insofern eine wesentliche Abweichung, als in der Zeit vom 7. bis 14. Tage eine nochmalige starke Kohlensäurebildung nach vorhergehendem steilen Abfall am 6. Tage eingetreten ist. Wenn eine ähnliche Schwankung bei VIII und IX auch angedeutet ist, am 7. und 8., bzw. 5. Tage, so läfst sie sich mit derjenigen von VI doch nicht in Parallele stellen. Als ich bei dem Versuche VI diese Schwankungen beobachtete, dachte ich zunächst an eine Verunreinigung der Kultur, führte aber trotzdem den Versuch zu Ende. Umsomehr war ich jedoch überrascht, als am Schlusse des Versuches ein Ausstrich auf Agar mich davon überzeugte, dafs nur Staphylokokken gewachsen waren. Probeentnahmen liefsen sich während des Versuches infolge Fehlens der Entnahmevorrichtung nicht machen. Wenn man annehmen mufs, dafs in der Traubenzuckerbouillon der

Ablauf der Kohlensäurebildung und des Bakterienwachstums von der auftretenden Säuerung des Nährbodens abhängig ist, eine Tatsache, die durch drei gleich ausgefallene Versuche erwiesen scheint, so ist man wohl zu der Annahme genötigt — der sichere Beweis dafür ist jedoch nicht erbracht — dafs bei VI, trotz der Reinkultur am Schlusse zu Anfang doch eine Sekundärinfektion stattgefunden hat, die aber am Ende infolge Zugrundegehens der infizierenden Keime nicht mehr nachweisbar war. Eine andere Erklärung für diese Abweichung habe ich nicht ermitteln können.

Die Berechnung der Arbeitsleistung der fortzüchtungsfähigen Keime ergibt folgendes:

Bei Versuch VII wurde in den ersten 24 Stunden 1 mg CO_2 von 1121000000 Keimen gebildet. Bei Versuch VIII kamen auf 1 mg CO_2 1173000000 Keime.

Versuch IX weicht infolge der Entwicklungsverzögerung in den ersten 24 Stunden von den beiden andern ab, auf 1 mg CO_2 entfielen nur 367000000 Keime, dagegen wurde nach Ablauf von 48 Stunden 1 mg CO_2 von 1217000000 Keimen produziert, eine Zahl, die sich denen der beiden andern Versuche gut anpafst.

Eine Vergleichung dieser Werte mit den entsprechenden von III, IV und V ergibt, dafs weniger Keime in der Traubenzuckerbouillon für die Bildung von 1 mg CO_2 nötig waren. Man könnte daraus schliefsen, dafs der Zuckerzusatz die Energie der Staphylokokken gesteigert hätte.

Die Häufigkeit der Teilung in den ersten 24 Stunden würde sich nach der oben angegebenen Formel aus Einsaatmenge und Zahl der nach 24 Stunden zur Entwicklung gekommenen Keime folgendermafsen berechnen lassen.

Versuch VII in 24 Stunden 17,58 malige Teilung,
» VIII » 24 » 21,48 » »
» IX » 24 » 11,81 » » (Wachstumsverzög.);
danach wäre bei VII nach 1,36 Stunden,
» VIII » 1,11 »
» IX » 2,03 » die Teilung
der einzelnen Individuen beendet gewesen.

Bei VII und VIII konnte die Bakterienernte nicht bestimmt werden, da die Kulturflüssigkeit zur Untersuchung auf anderweitige Stoffwechselprodukte verbraucht wurde.

Bei IX ergab die Erntebestimmung für 100 ccm 18,29 mg als Bakterienstickstoff. Da zu den Keimzählungen 180 ccm verbraucht wurden, waren am Schlusse noch 520 ccm Nährbouillon vorhanden. Demnach waren als Bakterienstickstoff insgesamt 95,108 mg in Anrechnung zu bringen. Wenn man jedoch annehmen will, daſs die Konzentration der Bouillon in Bezug auf Bakterienleiber nach dem Maximum der Keimentwicklung ziemlich konstant geblieben ist, so ergäbe die Umrechnung des für 100 ccm gefundenen N auf 700 ccm ohne einen sehr bedeutenden Fehler zu machen, die Gesamternte. Allerdings würde dann bei der Beziehung der Gesamternte auf die Gesamt-CO_2-Produktion zu berücksichtigen sein, daſs die in den 180 ccm enthaltenen Keime für die CO_2-Bildung zum Teil ausgeschaltet waren. Die Berechnung der Arbeitsleistung würde demnach zu gering ausfallen. Ich will daher ohne Berücksichtigung der CO_2-Menge nur die Gesamternte für diesen Versuch bestimmen. In 700 ccm Versuchsbouillion waren 128,03 mg N als Bakterienstickstoff enthalten. Diese Stickstoffmenge entspricht einer auf Agar gewachsenen nicht getrockneten Staphylokokkenmenge von 5,69 g.

Die vier Versuche mit Traubenzuckerbouillon haben deutlich gezeigt, daſs die infolge der Zuckerzersetzung, einer Wirkung des Bakterienstoffwechsels, eintretende Säuerung des Nährbodens eine schnell einsetzende Hemmung des Bakterienwachstums und des Stoffwechsels bedingt. Es war daher von groſsem Interesse zu untersuchen, wie sich der in der CO_2-Bildung zum Ausdruck kommende Stoffwechsel bei Ausschaltung der Säurewirkung gestalten würde.

Um die gebildete Säure abzustumpfen, wurde in den nächsten beiden Versuchen der Traubenzuckerbouillon eine genügende Menge von Marmor zugesetzt. Im übrigen war die Zusammensetzung der Nährflüssigkeit genau wie die bei VI, VIII und IX.

Versuch X.

500 ccm 2 proz. Traubenzuckerpeptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion. Zusatz von 100 g Marmor.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg
1	263,45	287,28	29	65,56	67,2
2	427,9	444,48	30	51,92	55,44
3	458,7	673,2	31	149,55	159,6
4	308,0	308,0	32	124,52	106,8
5	266,25	354,96	33	49,85	62,47
6	201,51	198,96	34	106,48	88,08
7	274,12	284,16	35	90,64	118,2
8	235,84	256,56	36	135,96	134,16
9	158,4	179,04	37	123,32	126,00
10	149,52	156,0	38	102,08	104,16
11	161,04	166,94	39	127,6	130,32
12	104,28	143,28	40	110,0	114,72
13	206,36	174,96	41	101,2	103,44
14	181,28	189,12	42	83,6	86,16
15	115,72	123,6	43	127,6	132,0
16	65,56	91,68	44	22,0	23,52
17	92,84	88,56	45	110,0	118,32
18	99,88	112,32	46	92,4	88,56
19	169,84	182,88	47	52,8	56,64
20	90,64	93,36	48	110,0	107,76
21	142,56	142,56	49	96,8	98,88
22	24,9	26,97	50	105,6	109,44
23	27,28	40,8	51	88,0	90,48
24	194,22	192,0	52	74,8	74,8
25	128,48	109,92	53	88,0	91,68
26	138,16	184,08	54	88,0	111,12
27	126,72	116,88	55	66,0	68,88
28	120,12	151,68			

Am 55. Tage wurde der Versuch abgebrochen, obwohl noch eine reichliche Menge CO_2 gebildet wurde. Auch bei diesem Versuche war in der vorgelegten Schwefelsäure kein flüchtiges NH_3 absorbiert worden. Die graphische Darstellung des CO_2-Ablaufes findet sich in Figur 10. Wegen der hohen Zahlen, namentlich zu Anfang des Versuches, mufste eine Kürzung der CO_2-Werte

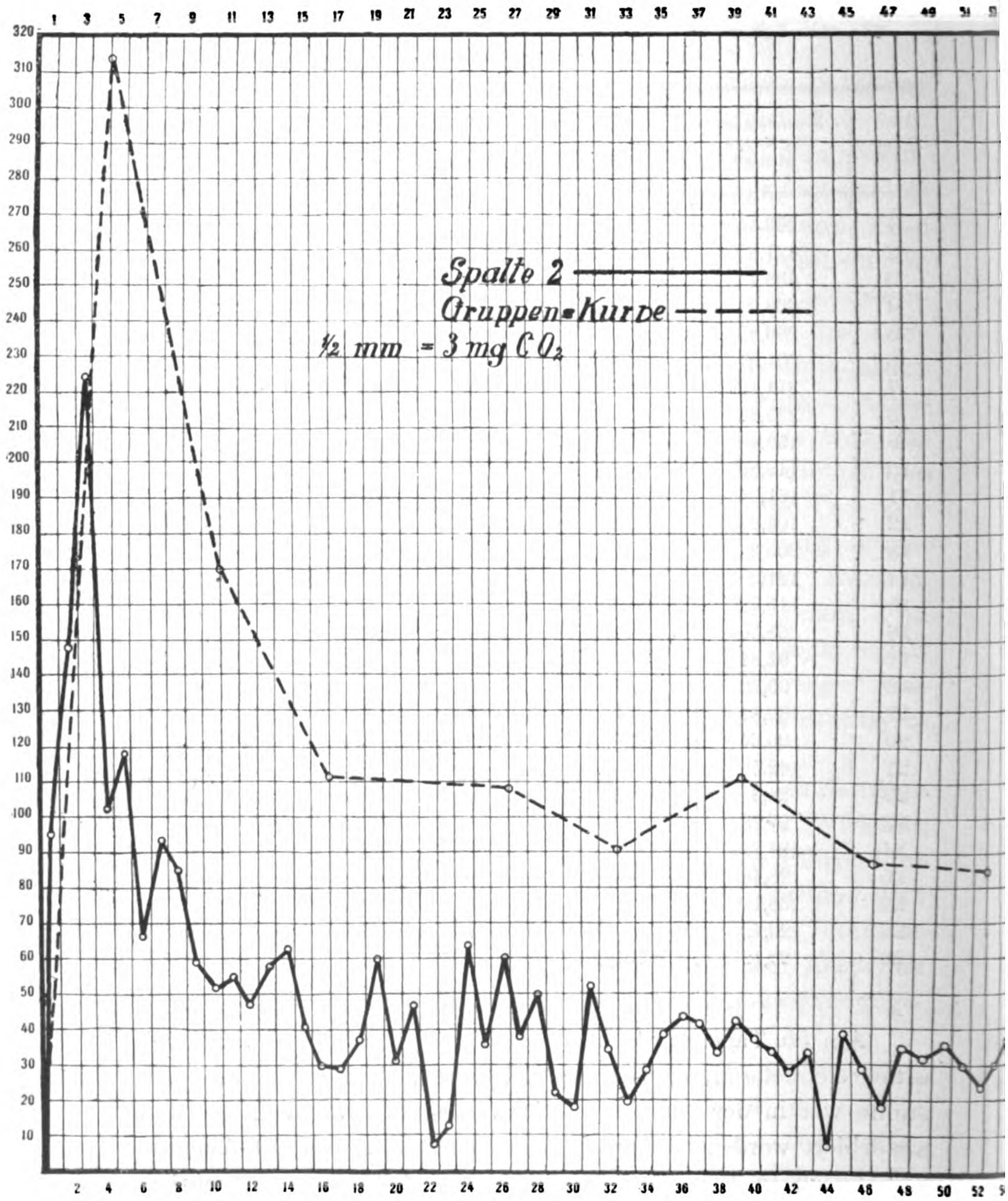


Fig. 10.

durch Division durch 3 vorgenommen werden, da die Figur sonst einen zu grofsen Umfang bekommen hätte.

Wie bei den vorhergehenden CO_2-Kurven so tritt auch hier gleich zu Anfang in den drei ersten Tagen die Höhe der CO_2-Bildung auf. Vom 3. Tage ab sinkt sie zuerst ziemlich stark, dann langsamer unter kleineren Schwankungen bis zum 17. Tage ab und hält sich unter Schwankungen um eine mittlere Höhe ziemlich konstant bis zum 55. Tage. Einzelne in die Augen fallende Perioden lassen sich schwer aus diesem Ablauf heraus lesen. Um die kleineren Tagesdifferenzen auszuschalten, die ihre Ursache in äufseren Verhältnissen (Schwankung der Brutschranktemperatur u. ä.) haben können, will ich ebenso wie bei Versuch VI mehrere Tage zu einer Gruppe zuzammenfassen und durch Berechnung der täglichen Gruppendurchschnittswerte die Daten für die Gruppenkurve feststellen.

Tage	Gesamt-CO_2 Menge in mg	Taglicher Durchschnitt in mg	Differenzen der einzelnen Gruppen
1.—7.	2199,94	314,28	— 143,32
8.—14.	1196,72	170,96	— 59,96
15.—21.	777,04	111,005	— 2,35
22.—28.	760,58	108,65	— 17,43
29.—35.	638,52	91,22	+ 20,74
36.—42.	785,76	111,96	— 24,66
43.—49.	611,60	87,3	— 2,24
50.—55.	510,4	85,06	—

Das Bild dieser Kurve (vgl. die gestrichelte Kurve in Figur 10) entspricht im ganzen dem bereits vorher Gesagten. Auf den ersten starken Anstieg folgt schneller und erheblicher Abfall der Kohlensäurewerte, bis zur 3. Gruppe sich hinziehend. Dann sinkt die Kurve ganz langsam und wird nur von einer kleinen Steigung in der 6. Gruppe (36.—42. Tag) unterbrochen. Gleichzeitig erkennt man, dafs einmal der Versuch mit dem 55. Tage noch lange nicht beendet gewesen ist und zweitens, dafs

lediglich das Auftreten der Säure in Versuch VI bis IX das Aufhören der Bakterientätigkeit verursacht hat.

Die bei weitem höheren Kohlensäurewerte im Anfange dieses Versuches sind durch den Zusatz kristallinischen Kalziumkarbonats zum Teil mit bedingt, aus dem bei Bindung der Säure CO_2 abgespalten und mit dem CO_2 des Stoffwechsels gemessen wurde.

Insgesamt betrug die CO_2-Bildung während der 55 Tage 7480,56 mg, davon sind die aus dem Kalziumkarbonat stammenden CO_2-Mengen in Abzug zu bringen. Die Aschebestimmung am Schlusse ergab in 100 ccm 0,414 g CaO, in 500 ccm demnach 2,070 g CaO.

$$2{,}070 \text{ g } CaO = 1{,}42712 \text{ g } CO_2$$

$$\begin{array}{r} 7{,}48056 \\ -\ 1{,}42712 \\ \hline \text{demnach } 6{,}05344 \text{ g } CO_2, \end{array}$$

die durch Oxydation des im Nährboden vorhandenen Kohlenstoffes entstanden waren.

Diese CO_2-Menge entspricht einer Kohlenstoffmenge von 1,650 g. Im Durchschnitt sind dann täglich 0,03 g C oxydiert worden.

Die Bakterienernte stellte sich für diesen Versuch für 100 ccm auf 27,51 mg N für Bakterien, für 500 ccm = 137,55 mg N = 6,116 g feuchte Staphylokokkenmasse.

Es sind mithin von 6,116 g Bakterien = 1,650 g C oxydiert worden, von 1 g Bakterien = 1,65 : 6,116 = 0,269 g C oder täglich = 0,00489 g C.

Der nächste Versuch stellt einen Parallelversuch zu X dar. Die Nährbouillon hatte die gleiche Zusammensetzung; auch wurde wiederum zur Abstumpfung der Säure ein Marmorzusatz gewählt. Aufser den CO_2-Mengen wurden täglich auch die Keimzahlen im Kubikzentimeter festgestellt.

Versuch XI.

700 ccm 2 proz. Traubenzuckerpeptonbouillon von schwach alkalischer Reaktion.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Keimzahl im ccm Einsaat 68160	Reaktion des Nährbodens
1	189,78	207,36	1 250 000	
2	331,1	343,2	302 000 000	
3	617,65	907,2	995 000 000	
4	566,5	566,5	77 750 000	
5	421,52	562,8	45 250 000	
6	541,2	533,52	53 500 000	
7	560,83	581,28	62 580 000	
8	222,2	241,64	2 300 000	
9	179,08	203,28	1 000 000	
10	151,8	158,4	5 133 000	
11	147,4	152,88	205 875 000	schwach sauer
12	65,56	90,168	181 150 000	»
13	135,92	115,2	11 630 000	»
14	106,48	111,12	2 100 000	»
15	79,2	84,72	4 900 000	»
16	74,8	104,64	138 250 000	»
17	70,4	67,176	832 000 000	neutral
18	110,88	124,8	673 000 000	»
19	79,2	85,2	439 500 000	»
20	67,76	69,79	420 000 000	»
21	63,36	63,36	343 560 000	»
22	52,32	56,64	234 250 000	alkalisch
23	31,68	47,52	431 500 000	»
24	63,36	62,4	205 630 000	»
25	83,6	71,42	752 000 000	»
26	40,92	54,48	708 750 000	»
27	67,98	62,64	761 500 000	»
28	43,92	55,44	396 000 000	»
29	20,24	20,78	438 400 000	»
30	18,128	19,36	138 750 000	»

In der vorgelegten Schwefelsäure war kein NH_3 nachweisbar.

Der Versuch mufste mit dem 30. Tage abgebrochen werden, da der Nährboden bis auf 100 ccm durch die täglichen Keimzählungen verbraucht war. Die Reinheit der Kultur wurde aufser durch die Gelatineplatten noch durch Ausstriche auf Agar

täglich festgestellt. Die CO_2-Mengen und Bakterienzahlen sind in demselben Verhältnis wie bei Versuch X reduziert.

Der Ablauf der CO_2-Kurve entspricht vollständig dem in Versuch X. Zuerst erfolgt ein bedeutender Anstieg bis zum 3. Tage, dann sinkt die Kurve ziemlich gleichmäfsig und schnell bis zum 12. Tage und hält sich ohne wesentliche Tagesschwankungen auf einer gewissen Höhe. Es ist in diesem Versuche natürlich zu berücksichtigen, dafs schon durch die tägliche Verringerung des Nährbodens eine stetige Abnahme der CO_2-Menge eintreten mufste.

Sehr interessante Verhältnisse bietet die Bakterienkurve dar. In den ersten 24 Stunden ist die Keimentwicklung langsam; ihren Höhepunkt erreicht sie am 3. Tage und sinkt dann sehr schnell bis zum 9. Tage ab. Darauf beginnt ein abermaliger kleinerer Anstieg bis zum 11. Tage und ein zweiter Abfall bis zum 14. Während dieser Periode war die Reaktion des Nährbodens schwach sauer. Mit dem 15. Tage setzt wieder eine stärkere Bakterienentwickelung bis zum 17. Tage ein — (neutrale Reaktion), der ein erneuter Abfall folgt. Dieselbe Erscheinung — Anstieg und Absinken — wiederholt sich in der Zeit vom 24. bis 30. Tage, nachdem der Nährboden bereits eine alkalische Reaktion angenommen hat. Es wären demnach vier Entwickelungsperioden von je 7tägiger Dauer in dem 30 Tage gehenden Versuche zu unterscheiden. Die geringe Höhenentwicklung in der zweiten ist wohl durch die schwach saure Reaktion des Nährbodens bedingt, während bei den letzten beiden bereits eine neutrale bzw. alkalische Reaktion eingetreten war. Auffallend ist, dafs die CO^2-Kurve, abgesehen vom Anfang, gar keine der Bakterienkurve entsprechende Schwankungen aufweist.

Berechnet man, um die Beziehung zwischen der Kohlensäureproduktion und den Keimzahlen zu erhalten, die täglichen Durchschnittswerte innerhalb der vier Perioden sowohl den der CO_2-Menge, wie auch der Keime im Kubikzentimeter, so erhält man folgende Übersicht:

Tage	Durchschnittliche tägliche CO_2-Menge in mg	Durchschnittliche Keimzahl in ccm	Verhältnis der CO_2-Menge zur Keimzahl
1.—7.	461,22	219 619 000	1 : 476 169
8.—14.	144,06	58 455 400	1 : 405 771
15.—21.	77,94	406 615 000	1 : 5 345 329
22.—28.	54,82	498 518 000	1 : 9 093 542

Wenn ein Teil der CO_2, namentlich zu Anfang des Versuches, auch aus dem Kalziumkarbonat stammt, so läſst sich aus dieser Übersicht doch erkennen, daſs trotz der starken Bakterienvermehrung zum Schlusse weniger CO_2 gebildet worden ist; denn auf 1 mg CO_2 kommt in den beiden letzten Perioden das Vielfache der Bakterienmenge in den beiden ersten. Die Bestimmung der Arbeitsleistung der fortzüchtungsfähigen Keime wie bei den vorhergehenden Versuchen stöſst insofern auf Schwierigkeiten, als die in Abzug zu bringende CO_2 Menge aus dem Kalziumkarbonat erst am Schlusse berechnet worden ist. Es wären zur Bildung von 1 mg CO_2 in den ersten 24 Stunden nur 4 479 578 und am 2. Tage 601 993 355 Keime nötig gewesen, also wesentlich kleinere Mengen als in Versuch VII, VIII und IX.

Auch die Häufigkeit der Keimteilung weicht bedeutend von derjenigen der oben genannten drei Versuche ab. In den ersten 24 Stunden fand eine 4,19malige Teilung statt, demnach brauchten die Keime für eine Teilung 5,25 Stunden. Es liegt bei diesem Versuch trotz der verhältnismäſsig groſsen Einsaat eine auffallende Verzögerung der Vermehrung vor. Man könnte daran denken, daſs die Ursache derselben in dem Marmorzusatze zu suchen wäre. Eine ähnliche Verzögerung kam zwar in Versuch IX bereits zur Beobachtung, doch war sie hier bei weitem nicht so erheblich. Möglich wäre es immerhin, daſs das harte kristallinische Kalziumkarbonat die gebildete Säure nicht schnell genug binden konnte und so eine Hemmung des Wachstums durch die Säure zustande gekommen wäre. Ich möchte aber nach dem Ausfall der andern Versuche doch bezweifeln, daſs diese Säurewirkung schon so frühzeitig zur Geltung kommen

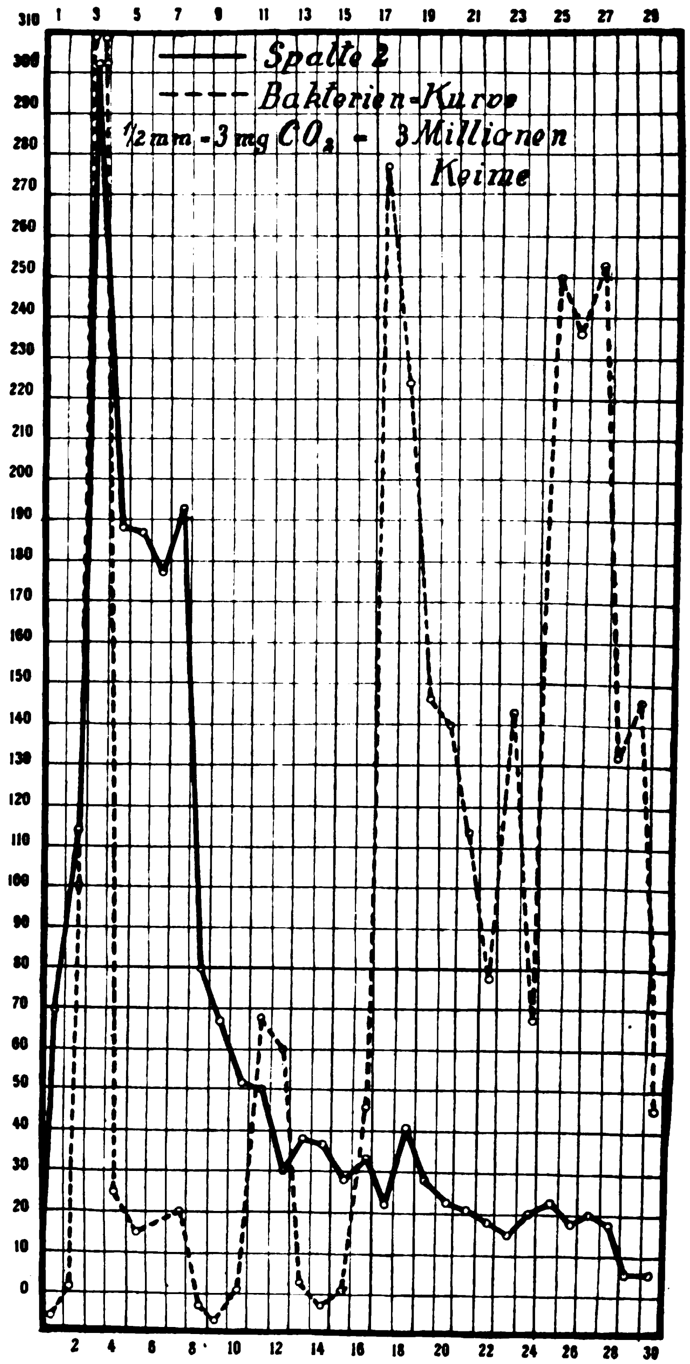


Fig. 11.

konnte. Nach meiner Ansicht müssen andere Umstände mitgewirkt haben, die ich jedoch nicht näher bestimmen kann.

Die Kalziumbestimmung am Schlusse des Versuches ergab für 100 ccm = 0,464 g CaO. Auf die Gesamtmenge des Nährbodens umgerechnet müfsten 2,4772 g CO_2 als aus dem Ca CO_3 stammend in Abzug gebracht werden.

Um die Bedeutung des Eiweifsgehaltes der Nährbouillon für das Wachstum und die Leistungsfähigkeit des Staphylokokkus festzustellen, habe ich der Vergleichung wegen noch einige Versuche mit einer eiweifsfreien Nährflüssigkeit, der Uschinskyschen Lösung, ausgeführt. Während dieser Nährboden einer ganzen Reihe selbst von pathogenen Mikroorganismen ein üppiges Wachstum gestattet, sagt er dem Staphylokokkus weniger zu. Es ist zwar eine Vermehrung der Kokken und auch eine CO_2-Produktion vorhanden, aber beide stehen doch in keinem Verhältnis zu den bei Verwendung von gewöhnlicher oder Traubenzuckerbouillon erzielten Resultaten.

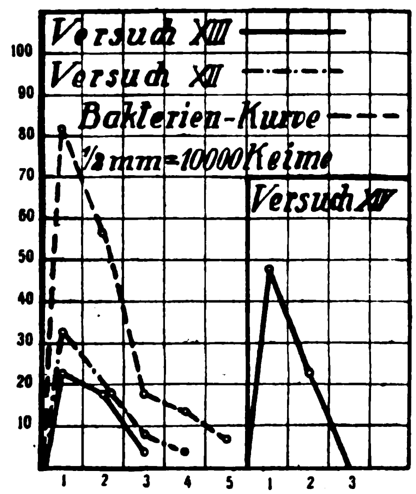


Fig. 12.

Versuch XII.

700 ccm Uschinskylösung von schwach alkalischer Reaktion.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in ccm	24stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg
1	30,8	33,12
2	17,6	18,93
3	8,8	8,45
4	4,4	4,73

Versuch XIII.

Dieselbe Nährlösung wie bei Versuch XII.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Keimzahl im ccm Einsaat 3610
1	22,0	23,52	820 000
2	17,6	18,93	570 000
3	4,4	4,36	184 000
4	—	—	146 000
5	—	—	76 000
6	—	—	—

Versuch XIV.

700 ccm Uschinskylösung mit 1 proz. Traubenzuckerzusatz von schwach alkalischer Reaktion.

Tage	Gemessene CO_2-Menge in mg	24 stündige CO_2-Menge nach der stündlichen Leistung berechnet in mg	Keimzahl im ccm Einsaat 3445
1	48,4	48,4	Infolge zu starker Verdünnung kein sicheres Ergebnis.
2	22,0	23,25	
3	0	0	

In der vorgelegten Schwefelsäure konnte gleichfalls kein flüchtiges NH_3 nachgewiesen werden. Die graphische Darstellung der Kurven dieser drei Versuche findet sich auf Figur 12. Für die Bakterienkurve bedeutet 1 mm der Figur = 10,000 Keime.

Dafs die Uschinskylösung kein guter Nährboden für den Staphylokokkus ist, prägt sich deutlich in den niedrigen Kohlensäurewerten und Keimzahlen aus. Im allgemeinen nähern sich beide Kurven bei allen drei Versuchen denen von VII VIII und IX. Auf den Anstieg im Beginn der Bakterienentwicklung folgt ein schneller und steiler Abfall ohne Schwankungen und am 3. bzw. 4. Tage hört die CO_2-Bildung bereits völlig auf. Etwas verbessernd scheint der Zuckerzusatz in Versuch XIV gewirkt zu haben. Die Kohlensäureproduktion weist etwas höhere

Werte auf. Doch sind diese so gering, dafs ihnen eine grofse Bedeutung wohl nicht beigemessen werden kann. Leider sind die Keimzählungen in diesem Versuche ausgefallen. In der Annahme, dafs der Traubenzucker ein üppiges Wachstum begünstigen würde, wandte ich stärkere Verdünnungen zur Herstellung der Gelatineplatten an als bei XII und XIII. Da die erwartete Vermehrung jedoch ausblieb, fielen die Keimzählungen negativ aus. In Versuch XIII ist am ersten Tage 1 mg CO_2 von 25345454 Millionen gebildet worden. Innerhalb dieser Zeit hatte eine 9,504malige Teilung stattgefunden, oder nach 2,52 Stunden wäre die Teilung jedes Individuums beendet gewesen.

Bei einem anderen Versuch, bei dem nur eine Keimzählung ausgeführt wurde, waren nach einer Einsaat von 1026 Keimen 225000 innerhalb 22 Stunden 30 Minuten im Kubikzentimeter zur Entwicklung gekommen. Diese Vermehrung entspricht einer 8,7 maligen Teilung und einer Beendigung jeder einzelnen in 2,56 Stunden.

Von einer Bestimmung der Gesamternte wurde wegen der geringen Bakterienentwicklung Abstand genommen.

Obgleich ich die Absicht hatte, bei den Versuchen mit Traubenzuckerzusatz gleichzeitig die Gröfse der Zuckerzersetzung zu bestimmen, um auch in dieser Beziehung einen Einblick in die Leistung der Bakterienmasse zu gewinnen, mufste ich jedoch zunächst wegen Zeitmangels davon Abstand nehmen. Bei zwei Versuchen habe ich dann die Bestimmung der Dextrosezersetzung ohne Berücksichtigung der Kohlensäureproduktion nachgeholt. Es wurde zu diesen Versuchen wie bei den anderen eine 2 proz. Traubenzuckerbouillon verwendet. Ich bediente mich dabei der von F. Allihn angegebenen Methode. Das ausgeschiedene Kupferoxydul wurde in den Allihnschen Röhren gesammelt, als Oxyd gewogen und nach den Weinschen Tabellen auf Traubenzucker umgerechnet.

Bei Versuch I waren in 100 ccm Nährboden 264 mg Dextrose in 22 Tagen zersetzt worden. Die nach der oben angegebenen Methode bestimmte Bakterienernte betrug 975 mg. Von 1 mg

Bakterien wären demnach 0,71 mg Dextrose in 22 Tagen zersetzt worden, an einem Tage = 0,0123 mg Dextrose.

Bei Versuch II betrug die Dextrosezersetzung für 100 ccm Nährboden 72,5 mg. Diese Arbeit war von 458 mg Bakterienmasse in 15 Tagen geleistet worden. Demnach hatte in dieser Zeit 1 mg Bakterienmasse 0,158 mg Dextrose zersetzt, oder in einem Tage = 0,01 mg Dextrose.

Obgleich es sich bei diesen Versuchen nur um die einfache Feststellung der Arbeitsleistung handelt, so glaubte ich doch, sie der Vollständigkeit halber erwähnen zu sollen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

In den vorstehenden Versuchen ist die CO_2-Produktion als ein Mafsstab für den Stoffwechsel des Staphylococcus aureus gewählt worden, in der Absicht, durch die Bestimmung dieses Produktes nach Ablauf, Menge und Beziehung zur Bakterienmasse ein Bild von den Umsetzungsvorgängen im Leben dieses Mikrokokkus zu geben. Wenn man bei dem Stoffwechsel der Bakterien zwischen den Umsetzungen, die dem Aufbau der Bakterienleiber, dem Wachstum und der Erhaltung der Leibessubstanz, dem Umsatze dienen, zu unterscheiden hat, so ist die Kohlensäurebildung als ein Produkt der Oxydation in der Hauptsache wohl dem letzteren zuzuzählen und als ein Dissimilationsprodukt aufzufassen. Sie würde also eine Folge der Zersetzungen sein, welche nötig sind, um dem Organismus die nötige Lebensenergie zu verschaffen. Versteht man weiter unter Dissimilation im engeren Sinne den Vorgang, welchen wir als Atmung bezeichnen, so wäre die Kohlensäure als das typische Endprodukt der organischen Atmung aufzufassen. Es würden demnach die gefundenen CO_2-Kurven gewissermafsen als die Atmungskurven des Staphylococcus aureus anzusehen sein. Allerdings würde durch die Bestimmung der CO_2-Werte nicht die ganze Intensität der Atmung gemessen werden können, da alle die Atmungsvorgänge, welche unter unvollkommener Oxydation verlaufen, der Bestimmung entgehen. Immerhin mufs es als ein wesentlicher Fortschritt

betrachtet werden, wenn schon durch die Messung der Teilatmung, wie sie in diesen Versuchen ausgeführt worden ist, für die verschiedenen Bakterienarten charakteristische Atmungstypen aufgestellt werden können.

Bei einem derartigen Unternehmen, wenn namentlich auch die Umsetzungen der vorhandenen Nahrungsstoffe bestimmt werden sollen, darf die Schwierigkeit nicht übersehen werden, dafs es bis jetzt an einem einheitlichen geeigneten Nährboden fehlt, der einerseits allen zu untersuchenden Bakterienarten ein üppiges Wachstum gestattet und anderseits chemisch so einfach zusammengesetzte und bestimmbare Bestandteile enthält, dafs er jederzeit in derselben Beschaffenheit angefertigt werden kann. Will man trotzdem den Versuch machen, unter Zuhilfenahme eines bereits recht kompliziert zusammengesetzten Nährbodens, der Fleischwasserpeptonbouillon, dann dürfte stets mit den sich aus den Versuchen I, II und III ergebenen Erfahrungen zu rechnen sein, nämlich, dafs es

1. trotz gleicher Versuchsbedingungen nicht möglich ist, im einzelnen übereinstimmende CO_2-Kurven zu gewinnen. Der Grund für diese Erscheinung mag zum Teil in den Untersuchungsfehlern, die nicht auszuschalten sind, liegen, zum Teil aber auch, wie bereits schon ausgeführt ist, in der individuellen Verschiedenheit der einzelnen Zellen zu suchen sein, und dafs
2. eine leidliche Übereinstimmung der Kurvenformen erst dann zu erzielen ist, wenn ein besserer Ausgleich der Tagesdifferenzen durch Zusammenfassung in mehrtägige Gruppen (10 Tage) herbeigeführt wird. Dem abweichenden Verhalten der CO_2-Kurven von Versuch III ist aus dem vorher angeführten Grunde keine grofse Bedeutung zuzuschreiben.

Wenn es berechtigt ist, aus diesen wenigen Versuchen überhaupt eine allgemeine Schlufsfolgerung zu ziehen, dann würde der Atmungstypus des Staphylococcus aureus beim Wachstum in Nährbouillon sich so gestalten, dafs innerhalb der beiden

ersten Gruppen der Anstieg erfolgt und dann ein langsamer bis zum Schlufs anhaltender Abstieg einsetzt.

Aus Versuch VI—IX geht der Einflufs des Traubenzuckerzusatzes auf den Ablauf der CO_2-Bildung hervor. Der Atmungstypus wird in der Weise geändert, dafs auf den schnellen Anstieg in den ersten Tagen ein fast ebenso schnelles Absinken bis zum Aufhören der CO_2-Produktion um den 10. Tag herum folgt.

Die Ausnahme, welche Versuch VI macht, ist wahrscheinlich durch eine Sekundärinfektion im Laufe des Versuches zu erklären.

Versuch X und XI liefert den Beweis

1. dafs die Säurewirkung durch Zusatz von Kalziumkarbonat ausgeschaltet werden kann,
2. dafs aber trotzdem die CO_2-Kurve (Gruppenkurve) nicht derjenigen von I und II gleicht; die Hauptkohlensäurebildung fällt in die ersten Versuchstage, sie sinkt darauf zuerst verhältnismäfsig schnell ab, bleibt aber später längere Zeit unter ganz allmählichem Absinken verhältnismäfsig hoch. Es mufs dahingestellt bleiben, ob nicht diese Abweichung vom Typus der Versuche I und II lediglich durch die infolge der Säurebildung eingetretene Abspaltung von CO_2 aus dem Kalciumkarbonat bedingt ist.

Die Versuche mit Uschinskylösung ohne und mit Traubenzuckerzusatz ergeben nichts Charakteristisches in Bezug auf die CO_2-Bildung, zeigen aber, dafs diese eiweifsfreie Nährlösung den zu Anfang dieser Zusammenfassung skizzierten Anforderungen an einen geeigneten Nährboden nicht entspricht, da sie nur eine mangelhafte Bakterienentwicklung gestattet.

Die den Ablauf der Bakterienentwicklung darstellenden Kurven lassen erkennen,

1. dafs eine gewisse Periodizität in der Entwicklung zu bestehen scheint, dergestalt, dafs auf eine schnelle Vermehrung ein schneller Abfall der Keimzahl und nach einer kurzen Zeit des Tiefsandes eine neue Vermehrungs- und Rückgangsperiode einsetzt,

2. dafs in der ersten Bakterienentwicklungsperiode CO_2-Bildung und Keimzahl den Kurven nach scheinbar gleichlaufend sind, in der späteren aber keine der Bakterienvermehrung entsprechende Steigerung der CO_2-Bildung auftritt. Diese Erscheinung würde darauf hindeuten, dafs bei dem Aufbau der Leibessubstanz die Oxydationsvorgänge keine grofse Rolle spielen.

Was die bei den einzelnen Versuchen gefundenen Arbeitsleistungen in Bezug auf Kohlensäureproduktion und Eiweifszersetzung anbetrifft, so ist zu bemerken, dafs eine Trennung zwischen dem Teil, der auf das Wachstum und dem, der auf die Erhaltung der Leibessubstanz zu beziehen ist, bei dieser Form der Versuchsanordnung nicht durchführbar ist. Aber auch sonst wird eine derartige Scheidung der beiden Arbeitsgröfsen bei der praktischen Bestimmung auf grofse Schwierigkeiten stofsen, da die Feststellung des Zeitpunktes, an welchem das Wachstum aufhört und lediglich das Leben, d. h. die Erhaltung der Leibessubstanz anfängt, überhaupt nicht möglich ist. Man wird sich daher wohl bis auf weiteres mit der Bestimmung der Gesamtleistung begnügen müssen.

In den nachstehenden Übersichten sind die Hauptergebnisse der Versuche in diesem Sinne zusammengestellt.

I.

Nr. d. Versuchs	Verwendete Nährflüssigkeit	Dauer des Versuchs in Tgn.	Täglich gebildete CO_2-Menge in mg	Gesamt-CO_2-Menge in mg	Entsprechende Zersetzung der Albumosen in %	1 g Bakterienmasse hat täglich Kohlenstoff oxidiert in g	Gesamte gebildete NH_3-Menge	Entsprechende Menge des zersetzten Eiweifses in %	Bakterienernte in g
I.	700 ccm Peptonbouillon von schwach. alkal. Reaktion . .	74	80,885	5985,55	42,389	—	325,76	22,94	—
II.	Desgl.	74	90,778	6717,59	47,584	0,003	537,41	39,5	8,248
VI.	500 ccm 2 proz. Traubenzuckerbouillon, schw. alk. Reaktion .	33	84,077	2774,55	—	0,00378	—	—	6,031
X.	500 ccm 2 proz. Traubenzuckerbouillon, Zusatz von Ca CO_3 schw.alk.Reakt.	55	110,062	6053,44	—	0,00489	—	—	6,119

II.

Nr. des Versuchs	Verwendete Flüssigket	Bakterienernte in g	1 mg CO_2 in den ersten 24 Stunden von wieviel Keimen gebildet?	Zahl der Teilungen in den ersten 24 Stunden	Teilungsdauer in den ersten 24 Stunden in Std.
III.	700 ccm Peptonbouillon .	—	3 069 800 000	17,13	1,4
IV.	700 ccm Peptonbouillon mit Gipszusatz . . .	—	1 125 500 000	15,37	1,56
V.	700 ccm Peptonbouillon mit Marmorzusatz . .	—	2 807 700 000	15,78	1,52
VII.	700 ccm Peptonbouillon mit 3 proz. Traubenzuckerzusatz	—	1 121 000 000	17,58	1,36
VIII.	700 ccm Peptonbouillon mit 2 proz. Traubenzuckerzusatz	—	1 173 000 000	21,48	1,11
IX.	700 ccm Peptonbouillon .	5,24	367 000 000[1]) 2. Tag: 1 217 000 000	11,81	2,03
XI.	700 ccm Peptonbouillon mit Marmorzusatz . .	—	4 479 578[2]) 2. Tag: 601 993 355	4,19	5,25
XIII.	700 ccm Uschinskylösung	—	25 345 453	8,81	2,55

Aus Übersicht I ergibt sich, dafs der Traubenzuckerzusatz nach Ausschaltung der Säurewirkung eine deutliche Steigerung der CO_2-Bildung hervorgerufen hat. Die durchschnittlichen Tagesleistungen sind höher als bei der gewöhnlichen Peptonbouillon. Diese Differenzen würden sich noch mehr zu Gunsten der Versuche VI und X verschieben, wenn I, II und X bis zum Aufhören der CO_2-Bildung fortgeführt wären.

Ferner zeigt Übersicht II, dafs auch in den Versuchen ohne Beseitigung der Säurewirkung der Traubenzuckerzusatz die CO_2-Leistung der Mikrokokken zu Anfang ihrer Entwicklung insofern günstig beeinflufst hat, als weniger Keime im Vergleich zu III, IV und V notwendig waren, um bei annähernd gleicher Teilungszahl und -dauer 1 mg CO_2 zu bilden.

1) Wachstumsverzögerung.

2) CO_2-Menge aus $CaCO_3$ nicht berücksichtigt.

Über die Bakterizidie der Meerschweinchen- und Rattenleukozyten gegen Schweinerotlaufbazillen.

Von

Dr. **Edmund Weil**.

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.)

Als die bakterienfeindlichen Eigenschaften des Blutserums durch Fodor, Nutall und insbesondere durch Buchner entdeckt waren, hatte man die erste experimentelle Grundlage für die Ursache der natürlichen Widerstandsfähigkeit gegenüber Infektionserregern gefunden. Das Fehlen der bakteriziden Fähigkeit des Blutes bei vorhandener Widerstandsfähigkeit kann man nach Metschnikoff durch die keimzerstörenden Eigenschaften der Leukozyten erklären, welche nach dessen Ansicht für gewöhnlich ihre wirksamen Stoffe nicht ins Blut abgeben, sondern in ihrem Innern die Abtötung der Bakterien vollführen. Die Phagozytose, die hervorragendste Eigenschaft der Leukozyten, setzt diese in den Stand, mit den Bakterien in Kontakt zu treten.

Während Buchner für die Alexine die Leukozyten als Ursprungsstelle ansah und mit ihm die Mehrzahl jener Forscher (Hahn, Schattenfroh etc.), welche in den Leukozyten bakterientötende Stoffe auffanden, also im Prinzipe mit Metschnikoffs Ansicht übereinstimmten, erwuchs letzterem ein Gegner in R. Pfeiffer, welcher die Säftewirkung als völlig unabhängig von den Phagozyten erklärte. Es ist hier jedoch nicht der Ort

auf die Kontroversen der beiden Forscher einzugehen. Nach dem jetzigen Stand unserer Forschung ist es entschieden, daſs die Säfte- und Leukozytenbakterizidie unabhängig voneinander vorkommen, und beiden für die natürliche Widerstandsfähigkeit gegenüber Bakterien eine Bedeutung zukommt.

Die feineren Vorgänge des in den Säften sich abspielenden Vernichtungsprozesses der Bakterien wurden zuerst von Metschnikoff und Bordet genau studiert. Diese Forscher konnten zunächst zeigen, daſs nicht, wie Pfeiffer annahm, der Tierkörper für die Auflösung der Bakterien nötig sei, sondern daſs dieselbe auch stattfinde, wenn im Reagenzglase das Immunserum mit frischem tierischen Gewebssafte zusammenwirke. Sie konnten zum ersten Male hierbei den Nachweis erbringen, daſs es sich um einen komplexen Vorgang handle, dessen Wesen darin besteht, daſs ein spezifischer Immunkörper mit einem thermolabilen Komplement die Bakteriolyse bedingt.

Metschnikoff hat diese Feststellungen dann auf die Leukozyten übertragen, denen er eine erfolgreiche Tätigkeit nur dann zuschrieb, wenn sie Bakterien aufnehmen, welche vorher mit spezifischem Immunkörper (Fixateur) beladen sind. Dabei muſs aber erwähnt werden, daſs Metschnikoff die im Innern der Leukozyten vor sich gehende Keimzerstörung völlig mit der extrazellulären identifiziert hat, indem in dem einen Falle das Komplement (Cytase) innerhalb der Leukozyten, in dem anderen Falle in den Säften die sensibilisierten Bakterien auflöst.

Die meisten Autoren aber, welche die antibakteriellen Leukozytenstoffe untersuchten, konnten wesentliche Differenzen zwischen ihnen und den Serumbakteriolysinen entdecken. Die Leukozytenstoffe sind thermostabil, besitzen nicht die Fähigkeit, bakteriolytische Immunkörper zu ergänzen, und sind gerade bei den Tieren schwer nachweisbar, deren Säfte in hohem Maſse bakterizid sind. Diese Feststellungen sprechen sehr gegen die Identität beider, und die meisten Autoren haben sich auch in diesem Sinne ausgesprochen.

Mit den Serumbakteriolysinen besitzen die Leukozytenstoffe eine Ähnlichkeit darin, daſs sie, wie Verfasser nachweisen konnte,

durch Bakterienbehandlung unwirksam werden. Diese Bindung ist jedoch nicht spezifisch, indem die Behandlung mit einer Bakterienart die Wirkung auf alle anderen Bakterien aufhebt. Da jedoch Pettersson festgestellt hat, dafs auch die Leukozytenstoffe komplex sind, so kann die nicht spezifische Erschöpfung durch Bakterien nur eine scheinbare sein, ein Umstand, den wir noch genau untersuchen wollen.

Wir konnten in Versuchen, die wir anstellten, um über die Herkunft des Komplements Klarheit zu erlangen, zeigen, dafs in den Meerschweinchenleukozyten Stoffe vorhanden sind, welche, an sich unwirksam, mit dem ebenfalls nicht bakteriziden Serum Heubazillen stark abtöteten. Diese Versuche, in welchen eine komplexe Bakterizidie zwischen Serum und Leukozytenstoffen demonstriert werden konnte, sprachen sehr dafür, dafs das bakterizide Komplement aus den Leukozyten stamme. Wir mufsten aber die Identität zwischen Serumkomplement und den komplementären Leukozytenstoffen aus mehreren Gründen ablehnen. Letztere sind thermostabil und sind nie im Blutserum vorhanden, da dasselbe meist nicht bakterizid ist. Findet man aber in seltenen Fällen ein solches oder erzeugt man es auf immunisatorischem Wege, so verschwindet diese Bakterizidie bei 56°, weil sie von dem echten Serumkomplement abhängig ist.

Wir haben demnach die Leukozyten-Serumbakterizidie als verschieden von der reinen Säftebakterizidie angesehen, welche letztere durch den bakteriolytischen Immunkörper und das Serumkomplement zustande kommt. Aus diesem Grunde haben wir den in den Säften vorhandenen Immunkörper, welcher mit den Leukozytenstoffen Bakterizidie ausübt, als leukotaktischen Immunkörper bezeichnet.

Tsuda konnte sowohl im Meerschweinchen- als auch im Hühnerserum gegenüber dem dem Heubazillus in vieler Hinsicht nahestehenden Milzbrandbazillus den leukotaktischen Immunkörper auffinden.

Da uns die Leukozytenbakterizidie von grofser Bedeutung für die natürliche Widerstandsfähigkeit gegen Bakterien zu sein schien, so haben wir unsere diesbezüglichen Untersuchungen weiter

ausgedehnt, und zwar auf solche Mikroorganismen, gegen welche eine sehr starke natürliche Resistenz besteht. Wir wählten den Schweinerotlaufbazillus, gegen welchen das Meerschweinchen so hochgradig immun ist, dafs man selbst mit den allergröfsten Mengen eine Infektion nicht erzielen kann.

Nachdem wir in früheren Untersuchungen, die sich auf den Vibrio Metschnikoff und den Subtilis bezogen, zeigen konnten, dafs bei den verschiedenen Mikroorganismen verschiedene bakterienfeindliche Fähigkeiten des Organismus in Aktion[1]) treten, einmal die Säfte, das anderemal die Leukozyten und schliefslich beide vereint, und dafs man unter Umständen die Reagenzglasresultate mit den Vorgängen im Organismus in Einklang bringen kann, so wollten wir diese Erfahrungen auch bei der Immunität des Meerschweinchens gegen den Schweinerotlaufbazillus in Anwendung bringen. Wir mufsten also die Säfte und die Leukozyten des Meerschweinchens auf ihre keimtötenden Fähigkeiten prüfen.

Wir müssen bezüglich der Gewinnung der Leukozyten und der sonstigen Versuchstechnik auf unsere früheren Leukozytenversuche und auf die beifolgende Arbeit von Weil und Toyosumi verweisen. Doch müssen wir hier einige Modifikationen erwähnen, die sich speziell auf den Schweinerotlaufbazillus beziehen. So ist es unbedingt erforderlich, jedem Agarröhrchen 1 ccm inaktiviertes Serum — wir benutzten Rinderserum — zuzusetzen, damit die Keime zu Kolonien auswachsen; das gilt insbesondere für die zur Einsaat verwendete Platte, da in den übrigen Röhrchen meist durch die Versuchsanordnung Serum enthalten ist. Doch haben wir der Gleichmäfsigkeit halber allen Proben aufserdem noch Rinderserum zugesetzt, und zwar dem verflüssigten Agar bei ungefähr 50°, da bei höherer Temperatur störende Trübungen auftraten. Die Einsaat nahmen wir so vor, dafs wir von einer 18stündigen Bouillonkultur mit einer 1 ccm-Pipette einen Tropfen in 3—5 ccm Na-CL-Lösung gaben, gut durchschüttelten und von

1) Anm. b. d. Korrektur. Leider konnten bei unseren jetzigen Untersuchungen die sehr wichtigen und interessanten Feststellungen von H. Muck, welche an wenig zugänglicher Stelle erschienen sind, und welche deshalb, weil sie beim Menschen angestellt wurden, ganz besendere Beachtung verdienen, nicht berücksichtigt werden.

dieser Verdünnung sofort einen Tropfen in jedes Versuchsröhrchen, dann erhält man eine Einsaat von 12—30000, die man nach Belieben modifizieren kann. Die Zählung mufs wegen der Kleinheit der Kolonien mikroskopisch vorgenommen werden, und zwar derart, dafs wir bei schwacher Vergröfserung stets 20 Gesichtsfelder aus den verschiedenen Teilen der Platte auszählten und die Durchnittszahl mit 1000 multiplizierten. War weniger als 1 Kolonie im Gesichtsfeld, so wurde die ganze Platte durchmustert. Das Erkennen der Kolonien macht anfänglich Schwierigkeit, hauptsächlich auf den Platten, welchen Leukozyten beigemischt sind; aus dem Grunde ist es ratsam, die Platte zweimal 24 Stunden im Brutschrank zu lassen, weil dann die Kolonien insbesondere auf den Platten, wo wenige sind, was ja hauptsächlich auf den Leukozytenplatten der Fall ist, so grofs werden, dafs man sie schon makroskopisch sieht. Aufserdem kommen durch die Serumbeimischung auf dem Agar meist rundliche Gebilde zustande, die ebenfalls eine oberflächliche Ähnlichkeit mit Kolonien besitzen; davor kann man sich jedoch schützen, dafs man jede Platte sofort nach dem Giefsen mikroskopiert und sich jene Gebilde, die meist im Gegensatz zu den unregelmäfsig geformten Kolonien kreisrund sind, merkt. Mit den genannten Schwierigkeiten hat man jedoch nur bei den ersten Versuchen zu kämpfen.

Eine Versuchsschwierigkeit ist auch darin gelegen, dafs man die isolierte Leukozytenwirkung nicht studieren kann, da es nicht möglich ist, die Leukozyten in Kochsalzlösung oder Bouillon aufgeschwemmt zu untersuchen; denn diese beiden Flüssigkeiten töten die zur Einsaat verwendete Bakterienmenge ab, was mit der Empfindlichkeit dieses Mikroorganismus zusammenhängt. Es kommt auch oft vor, dafs, wenn man mit der Öse eine ganz frische Bouillonkultur auf eine zweite Bouillon überimpft, letztere steril bleibt, was auf dieselbe Ursache zurückzuführen ist. Aus den beifolgenden Versuchstabellen sind die Einzelheiten der Versuchsanordnung ersichtlich. Die Menge der Flüssigkeit, in der die Leukozyten aufgeschwemmt wurden, beträgt stets 1 ccm, ebenso die der Flüssigkeiten ohne Leukozyten.

Versuch I.

	Nach 6 Stunden[1])
1. Leukozyten in Serum	0
2. Leukozyten in Na Cl	0
3. Serum	12 000
4. Na Cl	0

Einsaat 12 000.

Versuch II.

1. Leukozyten in Serum	0
2. Leukozyten in Bouillon	0
3. Leukozyten in Na Cl	0
4. Serum	25 000
5. Bouillon	0
6. Na Cl	0

Einsaat 30 000.

Diese Versuche zeigen, dafs, wie erwähnt, sowohl in der Kochsalzlösung als auch in der Bouillon die eingesäten Bakterien zugrunde gehen, so dafs man nicht entscheiden kann, welche Wirkung den Leukozyten in diesen Flüssigkeiten zukommt. Dahingegen erweisen sich die Leukozyten im Meerschweinchenserum, welches nicht bakterizid ist, sehr wirksam. Bei Benutzung des Serums als Aufschwemmungsflüssigkeit ist demnach die Möglichkeit geboten, die Leukozytenbakterizidie genau zu untersuchen.

Versuch III.

1. Leukozyten in Serum	0
2. Leukozyten in Serum $^1/_2$ Std. 56°	2 000
3. Vollexsudat	0
4. Serum	30 000
5. Serum $^1/_2$ Std. 56°	150 000
6. Exsudatflüssigkeit	150 000
7. Exsudatflüssigkeit $^1/_2$ Std. 56°	150 000

Einsaat 30 000.

Versuch IV.

1. Leukozyten in Serum	1
2. Leukozyten in Serum 56°	500
3. Milz in Serum	10 000
4. Milz in Serum 56°	50 000
5. Serum	30 000
6. Serum 56°	100 000

Einsaat 12 000.

1) Diese Zeit wurde in allen Versuchen gewählt.

Diese Versuche bringen zunächst eine Bestätigung der beiden ersten in dem Sinne, dafs die Leukozyten in dem an sich wirkungslosen Meerschweinchenserum in hohem Mafse bakterizid sind, und selbst im inaktivierten Serum, welches einen ausgezeichneten Nährboden für den Schweinerotlaufbazillus abgibt, töten sie diesen Mikroorganismus sehr stark ab. Wie Versuch IV zeigt, weist die Milz nur eine Spur bakterizider Tätigkeit auf, welche wohl den in ihr enthaltenen Leukozyten zugeschrieben werden mufs. Auffallend und überraschend ist der Befund der Exsudatflüssigkeit in Versuch III, welche nicht die geringste bakterizide Fähigkeit aufweist, indem gerade das Gegenteil erwartet wurde. Denn wir wissen, dafs gegenüber jenen Bakterien, wo die Leukozyten bakterizid sind, die keimtötenden Stoffe in reichlichem Mafse in die Exsudatflüssigkeit abgegeben werden; trotzdem weist bei der so starken Leukozytenbakterizidie gegen Schweinerotlauf die Exsudatflüssigkeit keine Spur von Bakterizidie auf. Man mufste also zunächst daran denken, dafs nur die lebenden Leukozyten befähigt sind, den Schweinerotlaufbazillus abzutöten und dafs mit dem Absterben der Leukozyten diese Fähigkeit verloren geht. Versuche mit Leukozytenextrakten mufsten darüber Aufschlufs geben. Wir stellten Gefrierextrakte her in der Weise, dafs die Zellen dreimal eingefroren und bei 37° rasch aufgetaut wurden. Als Leukozytenextrakt bezeichnen wir die Extraktionsflüssigkeit samt den eingefrorenen Leukozyten.

	Versuch V.	Versuch Vb.
1. Leukozyten in Serum	5	0
2. Leukozytenextrakt mit Serum	800	1 500
3. Leukozyten in Serum 56°	400	vereinzelt
4. Leukozytenextrakt in Serum 56°	7 000	8 000
5. Serum	50 000	30 000
6. Serum 56°	150 000	60 000
	Einsaat 30 000.	Einsaat 20 000.

Diesen Versuchen gemäfs sind nicht nur die lebenden Leukozyten, sondern auch deren Extrakte bakterizid wirksam, nur ist die Bakterizidie in den mit erhitztem Serum hergestellten Extrakten bedeutend abgeschwächt. Da jedoch die Leukozytenstoffe in die Exsudatflüssigkeit nicht abgegeben wurden, so war immer-

hin denkbar, dafs dieselben auch in die Extraktionsflüssigkeit der künstlichen Extrakte nicht übergehen; dies mufste sich durch gesonderte Untersuchung der zentrifugierten Extrakte, und zwar sowohl der Extraktionsflüssigkeit — des Abgusses — als auch der toten Leukozyten — des Rückstandes — bestimmen lassen. Wir haben in den folgenden Versuchen auch die Bezeichnung Abgufs für die klar zentrifugierte Extraktionsflüssigkeit und Rückstand für die Leukozytentrümmer gewählt. Es wurden also zu dieser Untersuchung stets zwei Röhrchen eingefroren, wobei das eine als Leukozytenextrakt, das andere getrennt, als Abgufs und Rückstand, auf ihre bakteriziden Fähigkeiten geprüft wurden.

Versuch VI.

1. Leukozyten in Serum	0
2. Leukozytenextrakt mit Serum	200
3. Abgufs des Extraktes	20 000
4. Rückstand in frisches Serum aufgeschwemmt	500
5. Serum	20 000

Einsaat 12 000.

Durch diesen Versuch wird es zunächst verständlich, weshalb die Exsudatflüssigkeit keine keimtötenden Fähigkeiten besitzt; denn wenn es durch gewaltsame künstliche Mittel nicht gelingt, den Leukozyten ihre bakteriziden Stoffe zu entziehen, so ist eine spontane Abgabe derselben in die Exsudatflüssigkeit nicht zu erwarten. Weiter zeigt dieser Versuch, dafs die Bakterizidie des Gefrierextraktes an den abgetöteten Leukozyten haftet. Wenn wir jedoch bedenken, dafs tote Leukozyten nicht phagozytieren, so ist dieses Ergebnis vollkommen unverständlich. Wir hielten es deshalb für nötig, uns zu überzeugen, ob dieses Resultat konstant zu erzielen ist, und haben eine Reihe weiterer derartiger Experimente angestellt.

Versuch VII.

1. Leukozyten in Serum	0
2. Leukozytenextrakt mit Serum	1 500
3. Abgufs des Extraktes	30 000
4. Rückstand + Serum	4 000
5. Serum	30 000

Einsaat 40 000.

Versuch VIII.

1. Leukozyten in Serum	0
2. Leukozytenextrakt mit Serum	300
3. Abgufs	20 000
4. Rückstand + Serum	950
5. Serum	20 000

Einsaat 25 000.

Versuch IX.

1. Leukozyten in Serum	0
2. Leukozytenextrakt mit Serum	900
3. Abgufs	15 000
4. Rückstand + Serum	900
5. Leberextrakt mit Serum	60 000
6. Serum	25 000

Einsaat 15 000.

Diese drei Versuche bestätigen vollkommen das Resultat des vorangehenden. Wir haben, weil uns diese Feststellung von Interesse schien, dieselben Versuche mit einem anderen Stamm von Schweinerotlauf angestellt, den uns Herr Prof. Král bereitwilligst zur Verfügung stellte. Der frühere Stamm ist die von der Landsberger Serumfabrik im Handel befindliche Kultur.

Versuch X.

1. Leukozyten in Serum	250
2. Leukozytenextrakt mit Serum	4 000
3. Abgufs	30 000
4. Rückstand + Serum	6 000
5. Serum	50 000

Einsaat Král 30 000.

Versuch XI.

1. Leukozyten in Serum	0
2. Leukozytenextrakt mit Serum	200
3. Abgufs	4 000
4. Rückstand + Serum	300
5. Vollexsudatextrakt	400
6. Abgufs (Exsudatflüssigkeit)	4 200
7. Rückstand des Exsudatextraktes + Exsudatflüssigkeit	200
8. Nierenextrakt + Serum	5 200
9. Serum	4 400

Einsaat Kràl 4 800.

Versuch XII.

1. Leukozyten in Serum	0
2. Leukozytenextrakt mit Serum	300
3. Abgufs	15 000
4. Rückstand + Serum	300
5. Leber + Serum	12 000
6. Exsudatflüssigkeit	16 000
7. Serum	12 000

Einsaat Kràl 14 000.

Auch die Versuche mit diesem Stamme stimmen vollkommen mit den vorangehenden überein. Wir haben alle angestellten Versuche mitgeteilt, so dafs wir kein einziges negatives Resultat hatten, und die Launenhaftigkeit, die Leukozytenversuchen stets anhaftet, hier nicht zum Ausdruck kam. Nur haben wir zu diesen Versuchen, welche die Extraktwirkung demonstrieren, stets eine gröfsere Menge Leukozyten, und zwar 0,15 g pro Röhrchen, verwendet. (Siehe Bestimmung der Leukozytenmenge in der folgenden Publikation von Weil und Toyosumi.) Wir werden bei der zusammenfassenden Besprechung der Versuchsergebnisse eine Erklärung dieser Experimente zu geben versuchen und wollen im nachfolgenden die Wirkungsweise der Leukozyten noch weiter prüfen.

Da wir wissen, dafs die Leukozytenstoffe meist thermostabil sind, so wollten wir auch diesbezügliche Untersuchungen anstellen, indem wir die Leukozytenemulsion eine halbe Stunde auf 56° erwärmten und gleichzeitig auch hier den Abgufs und Rückstand auf ihre Bakterizidie prüften.

	Versuch XIII.	Versuch XIV.
1. Leukozyten in Serum	0	0
2. Leukozyten in Serum 56°	0	1 200
3. Leukozyten in Serum, das Ganze auf 56° erhitzt	1 000	40 000
4. Abgufs der erhitzten Leukozytenemulsion	1 000	60 000
5. Rückstand derselben + Serum	1 500	40 000
6. Serum	1 000	25 000
7. Serum 56°	2 000	60 000
Einsaat	600	15 000.

Es zeigt sich, dafs die Leukozytenstoffe thermolabil sind, indem sie der Inaktivierungstemperatur nicht widerstehen, demgemäfs wirkt auch der Leukozytenrückstand, in frisches Serum aufgenommen, nicht bakterizid. Obgleich die Leukozytenstoffe meistens thermostabil sind, so kennen wir doch auch solche, welche, wie die eben erwähnten, bei Erhitzen auf 56⁰ unwirksam werden.

Da es, wie bereits erwähnt, nicht möglich ist, die isolierte Leukozytenwirkung in Kochsalzlösung oder Bouillon zu untersuchen, da bereits in diesen Flüssigkeiten die Schweinerotlaufbazillen zugrunde gehen, so mufs, um zu bestimmen, ob im Meerschweinchenserum ein Immunkörper an der Leukozytenbakterizidie mitbeteiligt ist, ein anderer Weg eingeschlagen werden. Durch Behandlung des Serums mit Bakterien und Entfernung derselben ist die Möglichkeit geboten, das Serum seiner Immunkörper und sonstigen wirksamen Stoffe zu berauben; es verhält sich danach, wie eine indifferente Flüssigkeit, und man kann auf diese Weise die isolierte Leukozytenwirkung prüfen. Die Erschöpfung wurde derart vorgenommen, dafs die auf 60⁰ erhitzten Bakterien je einer Kolleschen Schale mit 3 ccm Serum 1 Std. bei 37⁰ behandelt und hierauf zentrifugiert wurden. Das Serum wurde, um die Immunkörper möglichst vollständig zu entfernen, zweimal hintereinander auf die beschriebene Weise erschöpft.

Versuch XV.

	Nach 6 Stunden
1. Leukozyten in Serum	0
2. Leukozyten in Serum 56⁰	80
3. Leukozyten in erschöpftem Serum	0
4. Serum	30 000
5. Serum 56⁰	50 000
6. Serum erschöpft	50 000
7. Serum erschöpft ohne Einsaat.	0

Einsaat 10 000.

Versuch XVI.

1. Leukozyten in Serum	0
2. Leukozyten in erschöpftem Serum	400
3. Serum	30 000

4. Serum erschöpft	45 000
5. Serum erschöpft ohne Einsaat	0
6. Exsudatflüssigkeit	60 000

Einsaat 20 000.

Aus diesen Versuchen ist der Schlufs zu ziehen, dafs für die Leukozytenbakterizidie ein im Serum vorhandener Immunkörper nicht in Betracht kommt; die geringe Abschwächung, welche das erschöpfte Serum aufweist, ist auf die mit der Erschöpfung verbundene Inaktivierung desselben zurückzuführen. Es ist also sehr wahrscheinlich, dafs die Vernichtung des Schweinerotlaufbazillus von den Leukozyten allein vorgenommen wird.

Angesichts der starken Bakterizidie, welche die Meerschweinchenleukozyten auf den Schweinerotlaufbazillus ausüben, war die Möglichkeit geboten, damit den Schutz auf empfängliche Tiere zu übertragen. Wir haben aus dem Grunde beifolgenden Versuch angestellt.

Versuch.

Die Leukozyten von einem Meerschweinchen werden in 2 ccm Serum aufgeschwemmt, in 4 Teile geteilt und 4 weifsen Mäusen mit je 0,05 ccm Bouillonkultur von Schweinerotlaufbazillen intraperitoneal injiziert.

Maus I Maus II Maus III Maus IV	0,5 ccm Leukozyten + 0,05 ccm Emulsion Bouillonkultur intraperitoneal	Sämtliche Mäuse nach 3 Tagen krank	Sterben nach $4^1/_2$ Tgn.
Maus V Maus VI	Kontrollen 0,05 Bouillonkultur intraperitoneal	Stirbt nach 24 Stdn. Stirbt nach 3 Tagen.	

Wir entnehmen, dafs der erwartete Schutz nicht eingetreten ist, was darin seine Erklärung findet, dafs die Leukozyten ihre Stoffe nicht in die freie Flüssigkeit abgeben. Dadurch bleibt eine Resorption aus, so dafs die Keime, welche in der Bauchhöhle den Leukozyten entgehen und ins Blut gelangen, sich dort unbehindert vermehren und eine Infektion erzielen können.

Handelte es sich beim Meerschweinchen, wie bereits erwähnt, um ein Tier, welches gegenüber dem Schweinerotlaufbazillus eine absolute Resistenz aufweist, so ergab sich die Notwendigkeit, dieselben Versuche auch bei einem empfänglichen Tiere durchzuführen. Bei Maus und Taube scheitert die Durchführung an

versuchstechnischen Schwierigkeiten. Bei ersterem Tiere sind weder Blut noch Leukozyten in genügender Menge zu erlangen, bei letzterem macht die Leukozytengewinnung Schwierigkeiten. Und gerade diese müfsten bei einem empfänglichen Tiere in grofser Menge zur Verfügung stehen. Wir mufsten uns also mit der weifsen Ratte begnügen, welches Tier zwar eine deutliche, aber nicht vollkommene Widerstandsfähigkeit gegen unseren Stamm aufwies. 5 ccm Bouillonkultur, intraperitoneal injiziert, führten unter Krämpfen und schliefslich Lähmungen den Tod innerhalb 6 Tagen herbei, wobei sowohl im Peritoneum als auch im Herzblut Bakterien nachweisbar waren. Die Versuche wurden im Prinzip genau so durchgeführt wie beim Meerschweinchen.

Versuch XVII.

Leukozyten in 0,5 ccm Serum	1 100
Leukozyten in 0,5 ccm Serum 56° . . .	10 000
Serum 56°.	8 000

Einsaat 1 500.

Nach diesem Versuche ist im Gemisch Leukozyten + aktives Serum Entwicklungshemmung, während das Serum allein und die Leukozyten im inaktivierten Serum starkes Wachstum zulassen. Wir haben in den folgenden Versuchen um eine möglichst grofse Menge von Leukozyten und eine genügende Quantität Serum zu erlangen, stets zwei Ratten injiziert und die Leukozyten von je einer Ratte auf ein Röhrchen verteilt, aufserdem dieselben nicht wie im 1. Versuche in 0,5 ccm, sondern in 1 ccm Serum aufgeschwemmt.

Versuch XVIII.		Versuch XIX.	Versuch XX.	Versuch XXI.
1. Leukozyten in Serum . .	4 000	10 000	1 000	1 000
2. Leukozyten in Serum 56°	100 000	150 000	50 000	50 000
3. Serum	100 000	150 000	50 000	30 000
4. Serum 56°	100 000	150 000	100 000	50 000
Einsaat:	30 000	40 000	15 000	15 000

Diese Versuche zeigen wiederum, dafs die Leukozyten nur in aktivem Serum bakterizide Fähigkeiten enthalten. Diese stehen jedoch denen der Meerschweinchenleukozyten weit nach, obgleich

dieselbe Menge angewendet wurde wie bei letzteren. Das Serum ist völlig wirkungslos, und gibt einen besseren Nährboden ab als das Meerschweinchenserum. Konstant ist das Versagen der Leukozytenbakterizidie in inaktiviertem Serum im Gegensatz zu den Meerschweinchenleukozyten, welche auch darin deren starke Bakterizidie aufweisen.

Auch mit Rattenleukozyten wollten wir die analogen Versuche mit Gefrierextrakten herstellen wie beim Meerschweinchen, um zu prüfen, ob auch hier dieselbe Erscheinung zutage tritt.

Versuch XXII.

1. Leukozyten in Serum	200
2. Leukozytenextrakt mit Serum	400
3. Abgufs	50 000
4. Rückstand + Serum	400
5. Serum	40 000

Einsaat 10 000.

Versuch XXIII.

1. Leukozytenextrakt in Serum	150
2. Abgufs	40 000
3. Rückstand + Serum	300
4. Serum	30 000

Einsaat 6 000.

Auch hier tritt genau dasselbe Verhalten der Gefrierextrakte auf wie beim Meerschweinchen, so dafs an der Richtigkeit dieser rätselhaften Erscheinung nicht zu zweifeln ist.

Nun entsteht die Frage, ob uns unsere Experimente gestatten, einen Rückschlufs auf die Infektionsverhältnisse im Tierkörper bei Meerschweinchen und Ratte zu machen, welche mit den Versuchen in der Eprouvette in Einklang zu bringen sind. Die absolute Widerstandsfähigkeit des Meerschweinchens läfst sich sehr wohl mit der starken Leukozytenbakterizidie im Reagenzglase erklären. Diese äufsert sich darin, dafs eine grofse Einsaat vollkommen vernichtet wird, dafs die Leukozyten sowohl im aktiven als auch im inaktiven Serum, selbst im erschöpften Serum wirksam sind und dafs ferner zur Erzielung des bakteriziden Effektes nicht so grofse Mengen von Leukozyten

wie bei anderen Mikroorganismen nötig sind. Was die Infektion betrifft, ist zu bedenken, dafs sich der Schweinerotlaufbazillus im Serum nur sehr langsam vermehrt, indem seine Zahl binnen 6 Stunden höchstens verfünffacht wird, während z. B. Typhusbazillen oder Choleravibrionen sich während dieser Zeit von der geringsten Einsaat unendlich vermehren. Diese langsame Vermehrungsfähigkeit macht den Leukozyten, die im lebenden Tiere sicherlich viel intensiver wirken als extra corpus und aufserdem stets in unerschöpflicher Weise dem Infektionsorte zuströmen, leichte Arbeit. Da aufserdem die Leukozyten allein, ohne Mithilfe eines Serumimmunkörpers, die Bakterizidie ausüben, so wird selbst die gröfste Menge von Schweinerotlaufbazillen, da die durch Immunkörperbindung bedingte Infektionserleichterung hier nicht zustande kommt, von den Leukozyten bewältigt werden. So findet unserer Ansicht nach die absolute Resistenz des Meerschweinchens gegen Schweinerotlauf in der starken Leukozytenbakterizidie dieses Tieres ihre volle Erklärung.

Wenn wir unsere Ergebnisse mit Rattenleukozyten mit denen beim Meerschweinchen vergleichen, so ergibt sich eine Differenz nach zwei Richtungen. Erstens wirken die Rattenleukozyten viel schwächer und zweitens töten sie im Gegensatz zu den Leukozyten des Meerschweinschens die Bakterien nur im aktiven, nicht aber im inaktivierten Serum ab. Besonders der letztere Umstand verdient eine genauere Untersuchung. Es ist die Frage zu entscheiden, ob die Leukozyten eines Serumstoffes bedürfen, dessen Mitwirkung für die Bakterizidie eine unerläfsliche Bedingung ist. Als solche kämen Opsonine oder der leukotaktische Immunkörper in Betracht. Opsonine sind aus dem Grunde auszuschliefsen, da auch gefrorene Leukozyten, für welche phagozitosebefördernde Stoffe selbstverständlich bedeutungslos sind, mit aktivem Serum bakterizid wirken. Für einen termolabilen leukotaktischen Immunkörper kann man sich auch nicht ohne weiteres entscheiden, da man auch daran denken mufs, dafs das inaktivierte Serum einen besseren Nährboden für die Bakterien abgeben könnte, wodurch dann die ohnehin nicht sehr starke Leukozytenbakterizidie paralysiert werden kann. Obgleich durch

die Inaktivierung des Rattenserums die Nährstoffverbesserung keine sehr wesentliche ist, so wollten wir die Rattenleukozyten in inaktiviertem Meerschweinchenserum aufschwemmen und ihre Bakterizidie prüfen.

Versuch XXIV.

1. Rattenleukozyten in Rattenserum	900
2. Rattenleukozyten in Rattenserum 56°	35 000
3. Rattenleukozyten in Meerschweinchenserum 56°	35 000
4. Rattenserum	50 000
5. Rattenserum 56°	50 000
6. Meerschweinchenserum 56°	50 000

Einsaat 30 000.

Wir entnehmen daraus, dafs auch im inaktivierten Meerschweinchenserum die Rattenleukozyten versagen. Es war weiter von Interesse, die gegenseitige Einwirkung von Meerschweinchenleukozyten und Rattenserum und Rattenleukozyten und Meerschweinchenserum zu studieren, weil man in diesem Versuche über den Einflufs der Nährstoffbegünstigung Aufschlufs erlangen mufs, da das Meerschweinchenserum einen nicht so guten Nährboden für den Schweinerotlaufbazillus abgibt als das Rattenserum.

Versuch XXV.

1. Meerschweinchenleukozyten in Meerschweinchenserum	0
2. Meerschweinchenleukozyten in Meerschweinchenserum 56°	800
3. Meerschweinchenleukozyten in Rattenserum	80
4. Meerschweinchenleukozyten in Rattenserum 56°	1 000
5. Rattenleukozyten in Rattenserum	2 000
6. Rattenleukozyten in Meerschweinchenserum	10 000
7. Meerschweinchenserum	25 000
8. Meerschweinchenserum 56°	100 000
9. Rattenserum	40 000
10. Rattenserum 56°	100 000

Einsaat 15 000.

Nach diesem Versuche kann die Nährstoffverbesserung nicht ausschlaggebend für die schlechtere Leukozytenbakterizidie sein, denn die Rattenleukozyten wirken in Rattenserum besser als in Meerscheinchenserum, obgleich letzteres ein schlechteres Nährmedium für die Schweinerotlaufbazillen darstellt. Trotzdem aber möchten wir nicht mit voller Bestimmtheit die Anschauung ver-

treten, dafs die Rattenleukozyten für ihre Bakterizidie eines thermostabilen Serumimmunkörpers bedürfen, da wir den Einwänden nicht strikte begegnen könnten, welche behaupten, dafs das Versagen der lebenden Leukozyten im inaktiven Serum in der Kombination des Opsoninwegfalls mit der Nährstoffverbesserung seinen Grund haben könnte. Aufserdem kann sowohl das eigene inaktivierte Serum als insbesondere das fremde Serum die Leukozytenstoffe schädigend (antagonistisch) beeinflussen.[1]) Jedenfalls aber bleibt von diesen Einwendungen die Tatsache unberührt, dafs die Rattenleukozyten nur im aktiven Serum die Fähigkeit besitzen, den Schweinerotlaufbazillus abzutöten, und dieser Umstand erklärt sehr wohl die Tatsache, dafs bei der Ratte leichter eine Infektion zu erzielen ist als beim Meerschweinchen, wo die Leukozyten allein zur Bakterizidie befähigt sind. Dafs eine Inaktivierung der Körperflüssigkeiten im Tierkörper leicht möglich ist, haben wir bereits in unserer früheren Untersuchung über den Heubazillus gezeigt, und es ist ohne weiteres verständlich, dafs ein Teil der in gröfserer Menge injizierten Schweinerotlaufbazillen durch Bindung von Immunkörpern und Komplement die Bauchhöhlenflüssigkeit inaktiviert, worin dann die Leukozyten machtlos sind, infolgedessen der restliche Teil der Bakterien sich vermehren und eine Infektion erzielen kann.

Eine weitere Differenz der Schweinerotlaufinfektion bei Meerschweinchen und Ratte ist darin gelegen, dafs bei der Ratte eine Virulenzsteigerung gelingt, was beim Meerschweinchen nie der Fall ist. Auch für diesen Umstand lassen unsere Versuchsresultate eine Erklärung zu. Die Ursache der Virulenzsteigerung durch Tierpassage ist meist darin zu suchen, dafs die betreffenden Mikroorganismen gegenüber der Säftewirkung resistent werden. So ist die Virulenzsteigerung bei Halbparasiten (Typhus, Cholera), welche von den Säften abgetötet werden, meist dadurch bedingt,

1) Anm. b. d. Korrektur. Hierfür kann auch die von Schneider (dieses Archiv, Bd. 70) festgestellte ungemein interessante Tatsache in Betracht kommen, dafs die Leukozyten nicht in jede Flüssigkeit ihre keimfeindlichen Stoffe abgeben.

dafs die betreffenden Bakterien gegenüber den Bakteriolysinen widerstandsfähig werden, jene Bakterien, für welche die Opsonine von Bedeutung sind, werden im Tierkörper gegen diese immun, wie virulente Pneumokokken; immer handelt es sich um eine mit den Tierpassagen im Zusammenhang stehende und durch sie bedingte Gewöhnung an die aktiven Serumstoffe. Wenn also der Schweinerotlaufbazillus durch Rattenpassage die Eigenschaft erlangt, sich der aktiven Säftewirkung zu entziehen, so mufs er dadurch eine gröfsere Virulenz erlangen, da ja, wie nachgewiesen wurde, die Leukozyten zu ihrer Wirkung des aktiven Serumanteiles bedürfen.

Beim Meerschweinchen hingegen, wo offenbar das Serum für die Leukozytenbakterizidie belanglos ist, wird auch eine Gewöhnung der Bakterien an die Serumstoffe bedeutungslos sein. Eine Immunisierung der Bakterien gegen die wirksamen Leukozytenstoffe kann aber durch Tierpassagen nicht eintreten, weil im Tierkörper die Leukozytenstoffe gewöhnlich innerhalb der zur Phagozytose befähigten Leukozyten wirksam sind; denn wenn wir behufs Virulenzsteigerung Bakterien überhaupt aus dem Tierkörper herauszüchten, kommen auf dem künstlichen Nährboden nur solche zur Entwicklung, welche bereits mit den Säften in Kontakt gewesen sind, und diese neue Generation wird bereits eine Widerstandsfähigkeit gegen die Säfte aufweisen, wenn dieselben gegen sie wirksam sind. Diejenigen Keime aber, welche, wie der Schweinerotlaufbazillus den Leukozyten unterliegen, gelangen bei der Züchtung aus dem Tierkörper mit resp. in den Leukozyten auf den künstlichen Nährboden, sind aber von den stark wirksamen Leukozyten bereits abgetötet, so dafs die neue Generation nur aus solchen Keimen besteht, welche mit den Säften, nicht aber mit den Leukozyten in Berührung waren. Dadurch aber ist sowohl eine Gewöhnung an die Leukozytenstoffe als auch eine damit verbundene Erhöhung der Virulenz durch Tierpassagen ausgeschlossen.

Es erübrigt auch, den Zusammenhang der Phagozytose mit der Leukozytenbakterizidie zu erörtern und eine Erklärung für die Wirkung der abgetöteten Leukozyten zu geben. Was den

ersten Punkt betrifft, so töten die Meerschweinchenleukozyten auch im inaktivierten Serum den Schweinerotlaufbazillus ab, obzwar die Opsonine bei dieser Temperatur oft zerstört werden. Wir wollten uns überzeugen, wie die opsonischen Verhältnisse bei diesem Mikroorganismus liegen, und gleichzeitig, ob trotz der Abtötung der Leukozyten vielleicht doch eine Aufnahme in dieselben erfolgt.

Versuch XXVI.

	nach 1 Std.	nach 3 Std.
1. Leukozyten in aktivem Serum	sehr starke Phagoz.	unverändert
2. Leukozyten in Serum 56°	keine Phagozytose	unverändert
3. Leukozyten in Kochsalzlösung	geringe Phagozyt.	unverändert
4. Leukozyten in Serum eingefroren	keine Phagozytose	unverändert
5. Leukozyten in Serum 56° eingefroren	keine Phagozytose	unverändert
6. Leukozyten in Kochsalzlösung eingefroren	keine Phagozytose	unverändert
7. Leukozyten auf 56° erhitzt in Serum	keine Phagozytose	unverändert
8. Leukozyten auf 56° erhitzt in Serum 56°	keine Phagozytose	unverändert
9. Leukozyten auf 56° erhitzt in Kochsalzlösung	keine Phagozytose	unverändert

Diesem Versuch entnimmt man, dafs durch die Erwärmung des Serums auf 56° die Phagozytose vollkommen aufhört, während in der Kochsalzlösung Spontanphagozytose auftritt. Die abgetöteten Leukozyten zeigen, wie selbstverständlich zu erwarten war, keine Phagozytose.

Wenn wir nun in Erwägung ziehen, wodurch zunächst lebende Leukozyten zur Bakterizidie befähigt sein können, so kommen hierfür zwei Momente in Betracht. Entweder die Phagozytose oder die Abgabe der bakteriziden Stoffe in die die Leukozyten umgebende Flüssigkeit. Keines von beiden erklärt jedoch die Bakterizidie der Leukozyten in dem auf 56° erhitzten Serum, denn zu einer spontanen Abgabe der Leukozytenstoffe kommt es nicht, da die Exsudatflüssigkeit, in welcher massenhaft lebende Leukozyten waren, nie bakterizide Eigenschaften besitzt, und eine Phagozytose kommt in inaktiviertem Serum nicht zustande. Das Fehlen dieser beiden Momente ist noch schärfer ausgedrückt bei der Bakterizidie der Extraktrückstände, denn hier zeigt es sich, dafs selbst bei gewaltsamer Extraktion keine bakterizide Extraktionsflüssigkeit entsteht, und eine Phagozytose von seiten toter Leukozyten ist ausgeschlossen. Man könnte noch daran denken, dafs die Zeit der Extraktherstellung zu kurz ist für die

Abgabe der Leukozytenstoffe, und dafs dieselben während der sechsstündigen Versuchsdauer von selbst in die Flüssigkeit übergehen; obzwar dies infolge des Fehlens der bakteriziden Fähigkeit der Exsudatflüssigkeit sehr unwahrscheinlich ist, haben wir doch Extrakte nach der Buchnerschen Methode hergestellt und die Extraktionsflüssigkeit mit den eingefrorenen Leukozyten durch 18 Stunden bei 37° in Berührung gelassen, um zu untersuchen, ob vielleicht nach dieser Zeit die Extraktionsflüssigkeit bakterizid wird.

Versuch XXVII.

1. Leukozytenextrakt mit den extrahierten Leukozyten	8 000
2. Abgufs	40 000
3. Leukozytenextrakt ohne Einsaat (Kontrolle)	0

Einsaat 12 000.

Wir sehen, dafs auch nach dieser Zeit die wirksamen Leukozytenstoffe nicht spontan in die Extraktionsflüssigkeit übergehen, dafs im Gegenteil die labilen Leukozytenstoffe durch den 18 stündigen Aufenthalt bei 37° erheblich abgeschwächt sind, indem sie nur eine geringe Wachstumshemmung bedingen. Da es nach dem bisher Ausgeführten klar ist, dafs sich die Leukozyten passiv verhalten, mufs den Schweinerotlaufbazillen eine aktive Rolle zukommen, welche den Kontakt der bakteriziden Leukozytenstoffe mit den Bakterien vermittelt.

Wir konnten in einer früheren Untersuchung feststellen, dafs die bakteriziden Stoffe der Leukozyten eine starke Affinität zu den Bakterien besitzen, indem sie von letzteren gebunden und unwirksam werden. Diese Affinität würde auch bei der hier beschriebenen Erscheinung der Leukozytentrümmerbakterizidie die Hauptrolle spielen. Da die Leukozyten die gegen Schweinerotlauf wirksamen Stoffe weder spontan (Exsudatflüssigkeit) noch durch gewaltsame Eingriffe (Gefrierextrakte) abgeben, sondern nur bei Anwesenheit der Bakterien, so müssen diese den Reiz für die Abgabe dieser Stoffe bilden. Dieser Reiz besteht in der Avidität, welche die Leukozytenstoffe zu den Bakterien besitzen. Hierdurch würden die Bakterien die Fähigkeit erlangen, die an die Leukozyten fixierten keimfeindlichen Substanzen aus den Leukozyten zu extrahieren und an sich zu verankern, was gleich-

zeitig mit der Zerstörung der Bakterien verbunden ist. Dieser Vorstellung gemäfs würde es sich um eine Kontaktwirkung handeln, jedoch nicht in dem Sinne, dafs lebende Leukozyten ihre keimtötenden Substanzen durch Sekretion abgeben, sondern dafs die Leukozyten eine passive Rolle spielen, während der aktive Anteil den Bakterien zukommt. Diesem Kontakte verdanken wahrscheinlich auch die lebenden Meerschweinchenleukozyten im inaktivierten Serum, wo jede Phagozytose fehlt, ihre bakteriziden Fähigkeiten. Auch unsere früheren Feststellungen, bei Subtilis, wo die zentrifungierten Extrakte schlechter wirkten als die nicht zentrifugierten, sind auf diese Ursache zurückzuführen. Schliefslich konnte Tsuda in der beifolgenden Publikation bei Milzbrand dieselbe Erscheinung feststellen, wobei von besonderem Interesse ist, dafs die toten Meerschweinchenleukozyten erst dann ihre Stoffe abgeben, wenn die Milzbrandbazillen mit Serum sensibilisiert sind, was ganz analog ist mit der Avidität des Komplementes zu sensibilisierten Zellen. Mit Sicherheit geht jedenfalls aus dieser Tatsache hervor, dafs die Leukozyten keimtötende Fähigkeiten besitzen können, ohne dafs es zu einer Phagozytose und einer spontanen Sekretion von bakteriziden Stoffen zu kommen braucht. Wir möchten deshalb diese Eigenschaft der Leukozyten als Aphagozidie oder aphagozide Leukozytenwirkung bezeichnen.

Zusammenfassung.

1. Der Schweinerotlaufbazillus wird in starkem Mafse von den Meerschweinchenleukozyten abgetötet. Dieselben entfalten ihre Bakterizidie in aktivem, inaktivem und mit Bakterien erschöpftem Serum. Diese Flüssigkeiten üben allein keinerlei bakterientötende Fähigkeiten aus. Bouillon und Kochsalzlösung können als Aufschwemmungsflüssigkeiten für die Leukozyten nicht angewendet werden, weil in diesen Flüssigkeiten an sich schon die Bakterien zugrunde gehen.
2. Gefrierextrakte wirken nur dann bakterizid, wenn die abgetöteten Leukozyten aus der Extraktionsflüssigkeit

nicht entfernt werden. Die zentrifugierte Extraktionsflüssigkeit ist vollkommen wirkungslos, dahingegen aber wirken die eingefrorenen Leukozyten, wenn sie in frisches Serum aufgeschwemmt werden, bakterizid.

3. Daraus geht hervor, daſs die Leukozyten ihre keimfeindlichen Stoffe nicht abgeben. Diese Abgabe erfolgt weder spontan, da die Exsudatflüssigkeit der Leukozyten unwirksam ist, noch durch gewaltsame Eingriffe, wie Gefrieren. Da aber die abgetöteten Leukozyten auch nicht durch Phagozytose wirken können, so ist ihre bakterizide Fähigkeit in einem anderen Momente zu suchen, ebenso wie die Bakterizidie der Leukozyten im inaktivierten Serum, da, wie wir uns überzeugen konnten, darin gar keine Phagozytose stattfindet.
4. Die bakteriziden Leukozytenstoffe sind in hohem Grade thermolabil, da sie bei der Temperatur von 56° vollkommen vernichtet werden.
5. Auch die Leukozyten der weiſsen Ratten töten den Schweinerotlaufbazillus ab, doch nur dann, wenn sie in aktivem Rattenserum aufgeschwemmt sind; im inaktivierten Rattenserum versagen sie vollkommen.
6. Die Leukozyten-Gefrierextrakte wirken bei der Ratte in genau derselben Weise wie beim Meerschweinchen.
7. Im aktiven Meerschweinchenserum wirken die Rattenleukozyten schlechter als in Rattenserum, obgleich in letzterem sich die Bakterien stärker vermehren. Im inaktiven Mehrschweinchenserum sind sie ebenso wirkungslos wie im inaktiven Rattenserum.

Wenn man diese Ermittlungen im Reagenzglase mit dem Infektionsprozeſs beim lebenden Tiere in Einklang zu bringen sucht, so wird uns zunächst die absolute Widerstandsfähigkeit des Meerschweinchens wohl verständlich. Denn die Leukozyten dieses Tieres sind in hohem Maſse befähigt, den Schweinerotlaufbazillus abzutöten. Da sie hierzu der Mithilfe des Serums nicht bedürfen, so wird ihnen selbst die gröſste Menge von

Bakterien unterliegen, da eine Bindung von Serumimmunkörpern durch grofse Bakterienmengen bedeutungslos ist.

Die Empfänglichkeit der Ratte ist sowohl in der schwächeren Leukozytenbakterizidie als auch darin begründet, dafs die Leukozyten ohne Mitwirkung des aktiven Serums machtlos sind. Insbesondere infolge letzteren Umstandes ist eine Infektion leicht zu erzielen, da eine gröfsere Bakterienmenge die Körperflüssigkeiten im Tierkörper inaktiviert, was dann mit dem Versagen der Leukozytenbakterizidie verbunden ist.

Die Tatsache, dafs bei der Ratte durch Tierpassage eine Virulenzsteigerung zustande kommt, beim Meerschweinchen aber nicht, ist ebenfalls damit zu erklären, dafs die Rattenleukozyten der Mitwirkung des Serums bedürfen, die Meerschweinchenleukozyten aber nicht. Denn durch Tierpassage erlangen die Bakterien nur eine Resistenz gegen die Serumstoffe, nicht aber gegen die Leukozytenstoffe. Da im Tierkörper die Phagozyten durch Phagozytose wirken, da auf eine Kultur aus dem Tierkörper nur die Keime auf den Nährboden gelangen und wachsen, welche in den Säften leben, die in den Leukozyten vorhandenen Schweinerotlaufbazillen aber abgetötet sind, so ist eine Gewöhnung an die Leukozytenstoffe durch Tierpassage unmöglich.

Die Bakterizidie der abgetöteten Leukozyten wird verständlich, wenn man in Betracht zieht, dafs die Bakterien eine starke Affinität zu den Leukozytenstoffen besitzen. Die Avidität befähigt die Bakterien, die Leukozytenstoffe, welche auf eine andere Weise den Leukozytenleib nicht verlassen, aus den Leukozytenleibern herauszubinden. Die Leukozytenbakterizidie ohne Phagozytose haben wir als Aphagozidie oder aphagozide Leukozytenwirkung bezeichnet.

Literatur.

Buchner, Münch. med. Wochenschr. 1892. Nr. 8.
Fodor, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 7, Nr. 24.
Metschnikoff, Handbuch von Kolle und Wassermann.
Nutall, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 4.
Weil, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 44. Archiv. f. Hyg., Bd. 70.

Über die Wirkungsweise der Meerschweinchen- und Huhnleukozyten auf den Milzbrandbazillus.

Von

Dr. K. Tsuda.

(Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. F. Hueppe.)

Nachdem als die Ursache der natürlichen Widerstandsfähigkeit des Huhnes gegen die Infektion mit Milzbrandbazillen die starke bakterizide Leukozytenwirkung dieses Tieres erkannt wurde (Bail und Pettersson), war es von Interesse, ein hochempfängliches Tier nach der Richtung hin zu untersuchen. Als solches schien uns das Meerschweinchen geeignet, welches bekanntlich der Infektion mit Milzbrandbazillen fast gar keinen Widerstand entgegensetzt. Als Schutzmittel, die einem Tier gegenüber der bakteriellen Infektion zur Verfügung stehen, kommen hauptsächlich die Zellen und Säfte in Betracht. Von den Zellen sind es in erster Reihe die Leukozyten; denn der Anteil, welchen Organzellen am Verlauf der Infektion nehmen, ist nach den bisherigen Untersuchungen ein ganz untergeordneter. Unter den Säften spielt wohl die Hauptrolle die Blutflüssigkeit. Beide Stoffe lassen sich von Meerschweinchen leicht gewinnen und im Reagenzglase untersuchen. Die Leukozyten erhielten wir durch intraperitoneale Injektion von Bouillon, die 18 Stunden vor der Verblutung des Tieres vorgenommen wurde. Das Blutserum stammte stets von dem Tiere, das die Leukozyten lieferte. Wo freies Exsudat, was nur manchmal vorkommt, vorhanden war,

wurde es, wie aus den Protokollen ersichtlich ist, ebenfalls verwendet. Was die Menge der Leukozyten betrifft, so wurden die gesamten Leukozyten gewöhnlich auf 6 Röhrchen verteilt; denn von der Menge der Leukozyten ist das Resultat des Versuches in hohem Grade abhängig. Die Einsaat wurde von einer Kochsalzverdünnung der Bouillonkultur tropfenweise zu jedem Röhrchen gegeben. Die Kolonien auf der Platte wurden bis zu 1000 makroskopisch gezählt, sonst mikroskopisch mit schwacher Vergröfserung, indem die Zahl der in einem Gesichtsfeld vorhandenen Kolonien mit 1000 multipliziert wurde. Es wurde stets der ganze Inhalt des Röhrchens mit Agar überschichtet und zur Platte gegossen.

Versuch I.

			nach 4 Stunden
0,8	ccm	Meerschweinchenserum	35 000
0,8	›	NaCl-Lösung	3 100
0,8	›	Serum + Leukozyten	450
0,8	›	NaCl-Lösung + Leukozyten	2 800
0,8	›	Serum + Knochenmark	3 040
0,8	›	NaCl-Lösung + Knochenmark	8 600

Einsaat 4 100.

Versuch II.

			nach 4 Stunden
1	ccm	Meerschweinchenserum	15 000
1	›	NaCl-Lösung	4 480
1	›	Serum + Leukozyten	16
1	›	NaCl Lösung + Leukozyten	3 040
1	›	Serum + Knochenmark	120
1	›	NaCl-Lösung + Knochenmark	6 600

Einsaat 3 800.

Den beiden ersten Versuchen entnimmt man, dafs das normale Meerschweinchenserum nicht befähigt ist, den Milzbrandbazillus abzutöten, sondern dafs dasselbe im Gegenteil einen guten Nährboden für denselben abgibt. Die Leukozyten sind aber imstande, im normalen Meerschweinchenserum den Milzbrandbazillus in erheblicher Masse abzutöten, und selbst das Knochenmark besitzt öfters, allerdings nicht regelmäfsig, eine bakterizide Kraft, wenn es im Meerschweinchenserum suspendiert ist. Das auffallende in diesen beiden Versuchen ist der

Umstand, dafs in der Kochsalzlösung, welche an sich eine Vermehrung der Milzbrandbazillen nicht zuläfst, die Leukozyten keine Wirkung ausüben. Dasselbe tritt auch in der Knochenmarkemulsion hervor. Dies ist nur so zu deuten, dafs die Leukozyten allein eine erhebliche Fähigkeit, den Milzbrandbazillus abzutöten, meist nicht besitzen, sondern dieselbe erst dadurch erlangen, dafs das normale Meerschweinchenserum mitwirkt. Es handelt sich also hierbei um das erfolgreiche Zusammenwirken zweier an sich unwirksamer oder schwach wirksamer Faktoren, um das, was wir in der Immunitätslehre als komplexe Wirkung zu nennen gewohnt sind. Es ist interessant, dafs dieselbe Beobachtung bei dem den Milzbrandbazillus so nahe stehenden Heubazillus zuerst gemacht wurde (Weil). Aus diesen Versuchen einen Rückschlufs auf die hohe Empfänglichkeit des Meerschweinchens gegenüber der Infektion mit Milzbrandbazillen zu machen, sind wir nicht imstande, so dafs wir eigentlich nach der Richtung hin eine Enttäuschung erfahren haben, da wir ein vollständiges Versagen sämtlicher Schutzkräfte erwartet haben. Wir kommen jedoch auf diesen Umstand noch zurück.

Nach den beiden ersten Versuchen kann die komplexe bakterizide Wirkung darauf beruhen, dafs das normale Meerschweinchenserum durch seinen Gehalt an phagozytosebefördernden Stoffen den Kontakt der Bakterien mit den bakteriziden Leukozytenstoffen vermittelt und dadurch die Abtötung bedingt, während in der Kochsalzlösung die Leukozyten nicht phagozytieren, wodurch der bakterizide Effekt ausbleibt. Nun wissen wir aber, dafs gerade gegenüber dem Milzbrandbazillus eine starke Spontanphagozytose stattfindet, d. h. dafs die Leukozyten ohne Zusatz von Serum, also in Kochsalzlösung phagozytiert werden, wodurch die ebengenannte Erklärung nicht ausreichend ist. Um zu entscheiden, ob die Bakterizidie durch das Zusammenwirken zweier an sich schwach oder unwirksamer Stoffe zustande kommt, mufsten wir die Phagozytose ausschalten. Wegen der eben erwähnten Spontanphagozytose war dies nur dadurch möglich, dafs wir die Leukozyten abtöteten. Wir be-

dienten uns hierzu der Buchnerschen Methode, indem wir die Leukozyten in der Eiskochsalzmischung dreimal eingefrieren und bei 40° wieder auftauen liefsen. Wir haben in den Versuchsprotokollen die eingefrorenen Leukozyten je nach der Extraktionsflüssigkeit als Serum- oder Kochsalzextrakte bezeichnet und die abgetöteten Leukozyten aus der Extraktionsflüssigkeit nicht entfernt. Wo dies geschehen ist, ist es aus dem Protokolle ersichtlich.

Bei dieser Gelegenheit schien es uns auch von Wichtigkeit, zu untersuchen, ob bakterizide Substanzen in die Extraktionsflüssigkeit übergehen oder ob dieselben an den abgetöteten Leukozyten fixiert bleiben. Letzteren Umstand haben wir aus dem Grunde in Erwägung gezogen, da die Meerschweinchenleukozyten, welche den Schweinerotlaufbazillus in hohem Grade abtöten, ihre bakteriziden Stoffe nicht an die Extraktionsflüssigkeit abgeben (Weil).

Versuch III.

			nach 4 Stunden
0,6	ccm	Meerschweinchenserum	800
0,6	›	Na Cl-Lösung	1 100
0,6	›	Leukozytenserumextrakt (nicht zentrifugiert)	0
0,6	›	› Abgufs	76
		› Sediment + 0,6 ccm Serum	10
0,6	›	Leukozytenkochsalzextrakt (nicht zentrifugiert)	60
0,6	›	› Abgufs	200
		› Sediment + 0,6 ccm Serum	20
0,6	›	Knochenmarkserumextrakt (nicht zentrifugiert)	160
0,6	›	› Abgufs	640
		› Sediment + 0,6 ccm Serum	168
0,6	›	Knochenmarkkochsalzextrakt (nicht zentrifugiert)	1 480
0,6	›	› Abgufs	660
		› Sediment + 0,6 ccm Serum	240
0,6	›	Exsudatflüssigkeit	90
0,6	›	› ($^1/_2$ Std., 56°)	60

Einsaat 450.

Versuch IV.

			nach 6 Stunden
0,6	ccm	Meerschweinchenserum	35 000
0,6	›	Kochsalzlösung	40 000
0,6	›	› + Leukozyten	36
0,6	›	Leukozytenkochsalzextrakt (nicht zentrifugiert)	4 600
0,6	›	› Abgufs	1 240
		› Sediment + 0,6 ccm Serum	22
		› › + 0,6 › NaCl	11 000

Einsaat 1 800.

Diese Versuche zeigen zunächst, daſs auch die Kochsalzextrakte unter Umständen eine bakterizide Wirkung aufweisen können. Diese kommt, wie aus dem Versuch III hervorgeht, gegenüber einer sehr kleinen Einsaat zum Ausdruck oder, wie der Versuch IV zeigt, wenn lebende Leukozyten oder sehr groſse Mengen von Leukozyten verwendet werden. Eine bakterizide Wirkung der Leukozyten in Kochsalzlösung ist jedoch nur seltener, und wir haben bei unserer Versuchsanordnung, bei Verwendung nicht zu groſser Leukozytenmengen, eine wesentliche Bakterizide der Leukozyten in Kochsalzlösung meist nicht beobachten können. Weiter geht aus diesen Versuchen hervor, daſs die wirksame Substanz der Leukozyten in die Extraktionsflüssigkeit übergeht, daſs aber trotzdem die abgetöteten Leukozyten noch befähigt sind, die Milzbrandbazillen zu vernichten. Diese Bakterizidie kommt jedoch nur dann zustande, wenn die Leukozytentrümmer in Meerschweinchenserum aufgeschwemmt werden und selbst in dem Ausnahmsfalle, wo die Leukozyten in Kochsalzlösung wirken, tritt dieser Umstand hervor. (Versuch IV.) Es läſst sich also auch in diesem Falle die komplexe Wirkung demonstrieren.

Versuch V.

			nach 4 Stunden
0,5	ccm	Meerschweinchenserum	4 500
0,5	›	Kochsalzlösung	780
0,5	›	Serum + Leukozyten	0
0,5	›	Kochsalzlösung + Leukozyten	550
0,5	›	Serum + Knochenmark	24
0,5	›	Kochsalzlösung + Knochenmark	1 080
0,5	›	Leukozytenserumextrakt (nicht zentrifugiert)	110
0,5	›	› Abguſs	680
		› Sediment + 0,5 ccm Serum	25
0,5	›	Knochenmarkserumextrakt (nicht zentrifugiert)	650
0,5	›	› Abguſs	1 360
		› Sediment + 0,5 ccm Serum	960
0,5	›	Leukozytenkochsalzextrakt Abguſs	1 160
		› Sediment + 0,5 ccm Na Cl	2 560
0,5	›	Knochenmarkkochsalzextrakt Abguſs	1 600
		› Sediment + 0,5 ccm Na Cl	3 100
0,8	›	Vollexsudat	0
0,8	›	Exsudatflüssigkeit	180

Einsaat 1 600.

Versuch VI.

	nach 6 Std.
0,6 ccm Meerschweinchenserum (akt.)	55 000
0,6 » » (1/2 Std., 56°)	60 000
0,6 » Kochsalzlösung	65 000
0,6 » Leukozytenkochsalzextrakt Abgufs	40 000
» Sediment + 0,6 ccm Serum (akt.)	650
» » + 0,6 » » (1/2 Std., 56°)	2 800
» » + 0,6 » » NaCl	50 000

Einsaat 4 800.

Versuch VII.

	nach 4 Std.
0,5 ccm Meerschweinchenserum (aktiv)	1 600
0,5 » » (1/2 Std., 56°)	3 700
0,5 » Kochsalzlösung	2 240
0,5 » Leukozytenserumextrakt Abgufs	480
0,5 » » Abgufs (1/2 Std., 56°)	2 500
» Sediment + 0,5 ccm Serum (aktiv)	55
» » + 0,5 » » NaCl	1 200
0,5 » Leukozytenkochsalzextrakt Abgufs	1 600
» Sediment + 0,5 ccm Serum (aktiv)	60
» » + 0,5 » NaCl	2 560

Einsaat 720.

Versuch VIII.

	nach 4 Std.
0,6 ccm Meerschweinchenserum (aktiv)	1 600
0,6 » » (1/2 Std., 56°)	4 200
0,6 » Serum (aktiv) + Leukozyten	3
0,6 » » (1/2 Std., 56°) + Leukozyten	8
0,6 » Leukozytenserumextrakt (nicht zentrifug.)	4
0,6 » » (» ») (1/2 Std., 56°)	1 200
0,6 » » (» ») (Serum 1/2 Std., 56°)	130
0,6 » Vollexsudat	0
0,6 » Exsudatflüssigkeit	0
0,6 » » (1/2 Std., 56°)	0

Einsaat 1 440.

Versuch IX.

	nach 4 Std.
0,6 ccm Meerschweinchenserum (aktiv)	3 400
0,6 » » (1/2 Std., 56°)	4 600
0,6 » NaCl-Lösung	4 400

0,6 ccm	Leukozytenkochsalzextrakt Abgufs	3 840
»	» Sediment + 0,6 ccm Serum (aktiv)	3
»	» » + 0,6 » » (1/2 Std., 56°)	5
0,6 »	Vollexsudat	0
0,6 »	» (1/2 Std., 56°)	60
0,6 »	Exsudatflüssigkeit	400
0,6 »	» (1/2 Std., 56°)	360

Einsaat 3 200.

Diese Versuche lassen zunächst wiederum mit Sicherheit die komplexe Serumleukozytenwirkung erkennen. Im Gegensatz zu den beiden mitgeteilten Experimenten tritt hier eine wesentliche Wirkung in der Kochsalzlösung nicht ein, sondern die Leukozytenstoffe töten nur dann den Milzbrandbazillus ab, wenn sie mit dem normalen Meerschweinchenserum zusammen in Aktion treten. Das normale Meerschweinchenserum behält diese Fähigkeit selbst dann, wenn es der Inaktivierungstemperatur ausgesetzt war. Die Exsudatflüssigkeit ist im Gegensatz zu dem stets unwirksamen Serum befähigt, den Milzbrandbazillus zu vernichten, und zwar deshalb, weil die massenhaft angesammelten Leukozyten ihre Stoffe abgeben, welche ihrerseits wieder mit den Stoffen des Serums zusammen die Keimtötung bedingen. Diese Exsudatflüssigkeit widersteht ebenfalls der Inaktivierungstemperatur.

Nun entsteht die Frage, wie wir uns die Bakterizidie, welche von den toten Leukozyten ausgeht, erklären sollen. Nachdem wir festgestellt haben, dafs die abgetöteten Leukozyten ihre wirksamen Stoffe in die Extraktionsflüssigkeit abgeben, so könnte man sich die Wirkung der extrahierten Leukozyten einfach so denken, dafs es durch das Eingefrieren nicht zur vollständigen Abgabe der bakteriziden Stoffe kommt, sondern dafs der Rest erst während der Versuchsdauer von selbst in Extraktionsflüssigkeit übergeht und mit dem Meerschweinchenserum zusammen den Milzbrandbazillus tötet. Diese einfache und natürliche Vorstellung mufste sich durch das Experiment kontrollieren lassen, indem wir die Leukozytentrümmer in frisches Meerschweinchenserum aufschwemmten, längere Zeit miteinander in Kontakt liefsen und dann den Abgufs und den Rückstand untersuchten.

Versuch X.

Leukozytenkochsalzextrakt Sediment wurde in 0,6 ccm Meerschweinchenserum aufgeschwemmt, 15 Stunden bei 37° C belassen und dann zentrifugiert.

	nach 6 Std.
Abgufs	140 000
Sediment + 0,6 ccm Meerschweinchenserum	1 110
0,6 ccm Serum	120 000

Einsaat 2 240.

Versuch XI.

Leukozytenkochsalzextrakt Sediment mit 0,6 ccm Meerschweinchenserum versetzt, blieb 15 Stunden bei 37° C, dann wurde zentrifugiert.

	nach 6 Std.
Abgufs	45 000
Sediment + 0,6 ccm Serum	120
0,6 ccm Serum	11 000

Einsaat 1300.

Die Versuche zeigen ganz einwandfrei, dafs unsere eben geäufserte Vorstellung nicht zutrifft, dafs die Leukozytentrümmer spontan ihre bakterizide Substanz abgeben, sondern erst dann, wenn sich in der Serumleukozytenwirkung Milzbrandbazillen befinden. Daraus müssen wir schliefsen, dafs die Bakterien den Reiz für die Abgabe der keimfeindlichen Substanz darstellen. Da aber die Leukozytentrümmer selbst bei Anwesenheit der Milzbrandbazillen in Kochsalzlösung diese Substanz in merklicher Weise ebenfalls nicht abgeben, so mufs hierfür sowohl das Meerschweinchenserum als auch der Milzbrandbazillus verantwortlich gemacht werden. Man kann sich also vorstellen, dafs die Funktion des Meerschweinchenserums darin besteht, dafs es vermittelst eines Immunkörpers auf die Milzbrandbazillen wirkt. Nun wissen wir aus der Immunitätslehre, dafs die Sensibilisierung von Zellen die Avidität dieser zu anderen Stoffen, so z. B. zum Komplement, in starker Weise erhöht. Ähnliche Verhältnisse können hier vorliegen. Die durch das normale Meerschweinchenserum sensibilisierten Milzbrandbazillen erlangen eine erhöhte Avidität zu den Leukozytenstoffen und vermöge dieser Avidität kommt es zu Abgabe und Wirkung der keimfeindlichen

Substanzen der Leukozyten. Dafs die Leukozytenstoffe von den Bakterien gebunden werden, wurde von Weil nachgewiesen. Die Abgabe der wirksamen Leukozytenstoffe ohne Anwesenheit von sensibilisierten Milzbrandbazillen kommt nur dann zustande, wenn dieselben intensiven Eingriffen, wie z. B. Gefrieren, ausgesetzt werden. Die nach diesen Eingriffen dem Leukozytenleib noch anhaftenden Stoffe, welche offenbar in einer festeren Verbindung mit dem Leukozytenleibe stehen, gehen aber erst aus dem Leibe heraus, wenn, wie oben erwähnt, die Avidität sensibilisierter Bakterien auf dieselben einwirkt.

Um uns zu überzeugen, ob diese Feststellungen für alle Stämme des Milzbrandbazillus Gültigkeit haben, haben wir noch einen zweiten virulenten Stamm[1]) untersucht.

Versuch XII.

			nach 4 Std.
0,5	ccm	Meerschweinchenserum	23 000
0,5	»	NaCl-Lösung	11 000
0,5	»	Leukozytenserumextrakt (nicht zentrifugiert)	1 600
0,5	»	» Abgufs	3 600
		» Sediment + 0,5 ccm Serum	920
0,5	»	Leukozytenkochsalzextrakt (nicht zentrifugiert)	6 500
0,5	»	» Abgufs	10 000
		» Sediment + 0,5 ccm Serum	4 600
0,5	»	Knochenmarkserumextrakt (nicht zentrifugiert)	13 000
0,5	»	» Abgufs	17 000
		» Sediment + 0,5 ccm Serum	18 000
0,5	»	Knochenmarkkochsalzextrakt (nicht zentrifugiert)	60 000
0,5	»	» Abgufs	65 000
		» Sediment + 0,5 ccm Serum	25 000
0,5	»	Exsudatflüssigkeit	20 000
0,5	»	» (1/2 Std., 56°)	18 000

Einsaat 6 000.

1) Stamm Sobernheim. Der zu den anderen Versuchen verwendete Stamm (Lissa) wurde aus dem Boden eines Milzbrandstalles gezüchtet und ist offenbar durch den langen Aufenthalt im Boden und die daselbst verwendeten Desinfektionsmittel, die vor seiner Züchtung auf ihn eingewirkt haben, sehr abgeschwächt, so dafs seine Virulenz selbst durch Tierpassagen schwer zu steigern ist. Über die Milzbrandnatur dieses Stammes ist aber kein Zweifel.

Versuch XIII.

			nach 4 Std.
0,8 ccm	Meerschweinchenserum		9 000
0,8 ›	NaCl-Lösung		16 000
0,8 ›	Leukozytenserumextrakt (nicht zentrifugiert)		880
0,8 ›	›	Abguſs	2 480
	›	Sediment + 0,8 ccm Serum	1 800
0,8 ›	Leukozytenkochsalzextrakt (nicht zentrifugiert)		5 300
0,8 ›	›	Abguſs	5 600
	›	Sediment + 0,8 ccm Serum	3 600
0,8 ›	Vollexsudat		0
0,8 ›	Exsudatflüssigkeit		880
0,8 ›	›	(1/2 Std. 56°)	180

Einsaat 3 000.

Versuch XIV.

			nach 4 Std.
0,5 ccm	Meerschweinchenserum		35 000
0,5 ›	NaCl-Lösung		22 000
0,5 ›	Leukozytenserumextrakt (nicht zentrifugiert)		4 300
0,5 ›	›	Abguſs	6 000
	›	Sediment + 0,5 ccm Serum	2 800
0,5 ›	Leukozytenkochsalzeytrakt (nicht zentrifugiert)		9 400
0,5 ›	›	Abguſs	9 300
	›	Sediment + 0,5 ccm Serum	2 500
0,5 ›	Knochenmarkserumextrakt (nicht zentrifugiert)		12 000
0,5 ›	›	Abguſs	9 500
	›	Sediment + 0,5 ccm Serum	20 000
0,5 ›	Knochenmarkkochsalzextrakt (nicht zentrifugiert)		80 000
0,5 ›	›	Abguſs	100 000
	›	Sediment + 0,5 ccm Serum	24 000

Einsaat 9 500.

Wir ersehen daraus, daſs bei diesem virulenten Stamm sich die komplexe Wirkung nicht so demonstrieren läſst, daſs die quantitativen Differenzen so ausgesprochen sind, daſs man die verschiedene Virulenz der beiden Stämme dafür verantwortlich machen könnte. Während dieser Stamm stets im Tier verweilt hat, handelt es sich bei Lissa um einen, wie erwähnt, avirulenten Stamm, der groſse Ähnlichkeit mit einem Vakzin besitzt. Es erweisen sich also zur Untersuchung der komplexen Wirkung nicht alle Stämme als geeignet.

Es schien uns von Interesse, unsere bisherigen Experimente auf eine Tierart auszudehnen, welche gegenüber dem Milzbrand

bazillus eine hohe Resistenz aufweist, wofür uns das Huhn am geeignetsten schien. Die Hühnerleukozyten gewannen wir durch intraperitoneale Injektion von Aleuronat. Zu sämtlichen folgenden Versuchen wurde der Stamm Lissa benutzt.

Versuch XV.

			nach 4 Std.
0,8	ccm	Hühnerserum	30 000
0,8	»	Serum + Leukozyten	0
0,8	»	NaCl-Lösung + Leukozyten	0
0,8	»	Leukozytenserumextrakt (nicht zentrifugiert)	0
0,8	»	» Abgufs	0
		» Sediment + 0,8 ccm Serum	0
0,8	»	Serum + Knochenmark	2
0,8	»	Knochenmarkserumextrakt (nicht zentrifugiert)	0
0,8	»	» Abgufs	0
		» Sediment + 0,8 ccm Serum	0

Einsaat 1 800.

Dieser Versuch zeigt die Unwirksamkeit des Hühnerserums, die starke Bakterizidie der Leukozyten und Knochenmarkzellen sowohl in Serum als auch in Kochsalzlösung als Aufschwemmungsflüssigkeit, und stimmt hierin mit der Feststellung von Bail und Pettersson vollständig überein. Gleichzeitig entnimmt man daraus, dafs bei den Gefrierextrakten sowohl der Abgufs als auch der Bodensatz in frischem Serum aufgenommen stark wirksam sind. Es kam uns vor allem darauf an, auch hier die Wirkung der abgetöteten Zellen zu studieren, und aus dem Grunde wurde eine Reihe weiterer Versuche angestellt.

Angesichts der stark ausgesprochenen Wirkung der Leukozyten des Huhnes war zu erwarten, dafs auch die Extrakte in wirksamer Form zu erhalten sind; deshalb wurden die Leukozyten mehrmals hintereinander extrahiert und der Bodensatz nach der letzten Extraktion untersucht.

Versuch XVI.

			nach 4 Std.
0,8	ccm	Hühnerserum	5 200
0,8	»	NaCl-Lösung	2 920
0,8	»	Serum + Leukozyten	0
0,8	»	NaCl-Lösung + Leukozyten	5

0,8 ccm Leukozytenserumextrakt Abgufs I	—	
0,8 „ „ „ II	—	
0,8 „ Sediment II + 0,8 ccm Serum	257	0
0,8 „ Leukozytenkochsalzextrakt Abgufs I	—	6
„ „ II	—	11
„ Sediment II + 0,8 ccm NaCl		80
		145
		106

Einsaat 2 880.

Versuch XVII.

	nach 1 Std.
1 ccm Hühnerserum	8 000
1 „ NaCl-Lösung	10 000
1 „ Serum + Knochenmark	34
1 „ NaCl-Lösung + Knochenmark	1 800
1 „ Knochenmarkserumextrakt Abgufs I	152
1 „ „ „ II	340
1 „ „ „ III	420
1 „ Sediment III + 1 ccm Serum	26
1 „ Knochenmarkkochsalzextrakt Abgufs I	3 040
1 „ „ „ II	3 600
1 „ „ „ III	4 600
„ Sediment + 1 ccm NaCl	5 200

Einsaat 3 200.

Diese Versuche zeigen, dafs die Huhnleukozyten zwei- bis dreimal hintereinander sehr wirksame bakterizide Extrakte liefern und dafs der zwei- bis dreimal extrahierte Rückstand sowohl in Kochsalzlösung als auch in Hühnerserum wirksam ist. Eine sehr interessante Differenz weist diesbezüglich das Knochenmark auf, indem, wie aus den Versuchen hervorgeht, der zweimal extrahierte Rückstand nicht in Kochsalzlösung, wohl aber in Hühnerserum eine Wirkung entfaltet. Auch erweist sich der Abgufs nur im Serumextrakt, nicht aber in Kochsalzextrakten keimtötend.

Während also bei den Huhnleukozyten eine komplexe Wirkung nicht zu konstatieren ist, indem dieselben allein ohne Mithilfe des Serums Milzbrandbazillen in hohem Mafse v nichten, tritt die Komplexität in schönster Weise bei Bakterizidie des Knochenmarks hervor.

Versuch XVIII.

		nach 6 Std.
0,5	ccm Hühnerserum (aktiv	3 400
0,5	» » (1/2 Std., 56°)	80 000
0,5	» NaCl-Lösung	10 000
0,5	» Serum (aktiv) + Leukozyten	0
0,5	» » (1/2 Std., 56°) + Leukozyten	42
0,5	» NaCl-Lösung + Leukozyten	120
0,5	» Serum (aktiv) + Leukozyten (1/2 Std., 56°)	280
0,5	» » (1/2 Std., 56°) + Leukozyten (1/2 Std., 56°)	25 000
0,5	» NaCl-Lösung + Leukozyten (1/2 Std., 56°)	1 600
0,5	» Leukozytenserumextrakt Abgufs	2
0,5	» » » (1/2 Std., 56°)	2 240
	» Sediment + 0,5 ccm Serum (aktiv)	0
	» » + 0,5 » » (1/2 Std., 56°)	1 600
	» » + 0,5 » » NaCl	28
0,5	» Leukozytenkochsalzextrakt Abgufs	46
0,5	» » » (1/2 Std., 56°)	4 200
	» Sediment + 0,5 ccm Serum (aktiv)	5
	» » + 0,5 » » (1/2 Std., 56°)	960
	» » + 0,5 » » NaCl	1 800

Einsaat 8 000.

Versuch XIX.

		nach 6 Std.
0,6	ccm Hühnerserum	6 800
0,6	» NaCl-Lösung	30 000
0,6	» Serum + Knochenmark	0
0,6	» NaCl-Lösung + Knochenmark	0
0,6	» Knochenmarkserumextrakt (nicht zentrifugiert)	0
0,6	» » Abgufs	45
0,6	» » » (1/2 Std., 56°)	200 000
	» Sediment + 0,6 ccm Serum	12
0,6	» Knochenmarkkochsalzextrakt (nicht zentrifugiert)	0
0,6	» » Abgufs	4 600
0,6	» » » (1/2 Std., 56°)	200 000
	» Sediment + 0,6 ccm Serum	8
	» » + 0,6 » NaCl	4 200

Einsaat 6 200.

Versuch XX.

		nach 6 Std.
0,6	ccm Hühnerserum (aktiv)	28 000
0,6	» » (1/2 Std., 56°)	34 000
0,6	» NaCl-Lösung	32 000
0,6	» Serum + Leukozyten	0
0,6	» NaCl-Lösung + Leukozyten	0

	nach 6 Std.
0,6 ccm Leukozytenserumextrakt (nicht zentrifugiert)	0
0,6 » » Abgufs I	0
0,6 » » » I (1/2 Std., 56°)	180
0,6 » » » II	5
» Sediment II + 0,6 ccm Serum	0
0,6 » Leukozytenkochsalzextrakt (nicht zentrifugiert)	0
0,6 » » Abgufs I	0
0,6 » » » I (1/2 Std., 56°)	280
0,6 » » » II	15
» Sediment II + 0,6 ccm Serum	0
0,6 » Hühnerserum + Knochenmark	220
0,6 » NaCl-Lösung + »	7 000
0,6 » Knochenmarkserumextrakt (nicht zentrifugiert)	310
0,6 » » Abgufs I	680
0,6 » » » I (1/2 Std., 56°)	50 000
0,6 » » » II	450
» Sediment II + 0,6 NaCl	60
0,6 » Knochenmarkkochsalzextrakt (nicht zentrifugiert)	960
0,6 » » Abgufs I	15 000
0,6 » » » I (1/2 Std., 56°)	80 000
0,6 » » » II	16 000
» Sediment II + 0,6 ccm Serum	1 900

Einsaat 11 000.

Diese Versuche bringen zunächst eine Bestätigung der eben mitgeteilten in bezug auf die Extraktrückstände. Auch hier zeigt sich, dafs die Extrakte der Huhnleukozyten in beiden Anteilen, nämlich im Abgufs und im Rückstand sowohl in Serum als auch in Kochsalzlösung bakterizid wirken. Der Knochenmarkextrakt erweist sich jedoch nur mit Serum zusammen keimtötend, in der Kochsalzlösung entweder gar nicht oder in geringem Mafse. Der Inaktivierungstemperatur gegenüber erweisen sich die Huhnleukozyten resistent, ebenso wirken sie in inaktivem Serum. Nur wenn die beiden Anteile zusammen erhitzt werden, scheint die Wirkung aufgehoben zu sein. Die Bakterizidie des Knochenmarks jedoch wird bei 56° C vernichtet.

Während die bakteriziden Stoffe der abgetöteten Meerschweinleukozyten nur dann wirken, wenn die Milzbrandbazillen in Meerschweinchenserum aufgeschwemmt sind, so sind die Leukozytentrümmer des Huhnes auch in Kochsalzlösung zur Bakterizidie befähigt. Dieser Umstand steht in Übereinstim-

mung damit, dafs die Leukozyten des Huhnes der Mithilfe des Serums nicht bedürfen, und aus dem Grunde reicht wohl die Avidität der Milzbrandbazillen allein aus, die Leukozytenstoffe aus den abgetöteten Leukozyten zu extrahieren. Dafs hierzu eine Avidität vorhanden sein mufs, geht daraus hervor, dafs man die extrahierten Huhnleukozyten in der Kochsalz- oder Serumaufschwemmung längere Zeit suspendieren kann, ohne dafs eine Spur von bakterizider Substanz spontan in die Flüssigkeit übergeht.

Wenn wir aus unseren Reagenzglasversuchen einen Rückschlufs auf die Infektiosität des Milzbrandbazillus für das Meerschweinchen und das Huhn machen wollen, so gerät man, was das Meerschweinchen betrifft, in Verlegenheit. Denn dieses Tier sollte unserer experimentellen Feststellung gemäfs sich gegen die Milzbrandinfektion als widerstandsfähig erweisen, da es in seiner kombinierten Leukozytensäftewirkung über Mittel verfügt, die Milzbrandbazillen abzutöten. Nun wissen wir aber durch die Versuche von van Leent, dafs das Meerschweinchen von Peritoneum aus eine nicht geringe Widerstandsfähigkeit gegen die Milzbrandinfektion aufweist; nur von der Subcutis aus erliegt es widerstandslos. Wir müssen aber bezüglich der differenten Ergebnisse im Reagenzglas und Tierkörper in Erwägung ziehen, dafs der Milzbrandbazillus im Tierkörper eine neue Generation, die tierischen Bazillen, erzeugt, welche wohl gegenüber der Leukozytensäftewirkung resistent sein können. Reagenzglasversuche, welche mit tierischen Bazillen angestellt wurden, ergaben jedoch kein von den Kulturbazillen differentes Resultat, indem dieselben ganz in der gleichen Weise oder noch stärker von dem Leukozytenserumgemisch beeinflufst waren. Immerhin wäre es aber möglich, dafs die tierischen Bazillen im Tierkörper sich anders verhalten und der Leukozytenwirkung widerstehen, oder man könnte sich vorstellen, dafs der Milzbrandbazillus im Tierkörper befähigt ist, durch Abgabe des Aggressins sich die Schutzstoffe vom Leibe zu halten.

Die starke Widerstandsfähigkeit des Huhnes findet durch unsere Reagenzglasversuche eine Erklärung. Die Leukozyten

dieses Tieres sind befähigt, in starkem Maſse den Milzbrandbazillus abzutöten. So genügen schon ganz geringe Mengen von Leukozyten, um einen bakteriziden Effekt zu erzielen. Während man z. B. die gesamten intraperitonealen Leukozyten eines Meerschweinchens auf höchstens sechs Röhrchen verteilen darf, so reicht die gleiche Menge der Huhnleukozyten auf das Doppelte bis Dreifache aus. Weiter sind die Huhnleukozyten allein befähigt, die Milzbrandbazillen zu vernichten, während die Meerschweinchenleukozyten oft der Mitwirkung eines Serumimmunkörpers bedürfen. Es ist klar, daſs die Widerstandsfähigkeit eines Tieres am stärksten dann sein wird, wenn die Leukozyten allein zur Keimtötung befähigt sind. Denn wenn die Mithilfe des Serums nötig ist, so kann schon die Resistenz keine absolute sein, da einmal die Serumwirkung durch eine gröſsere Bakterienmenge infolge der Bindung der wirksamen Serumanteile ausgeschaltet werden kann, anderseits aber durch Tierpassage eine Gewöhnung der entsprechenden Bakterien an das Serum eintritt und ihnen dadurch die Infektionsmöglichkeit zukommt. Beide Umstände lassen sich beim Huhn nicht erzielen und beides scheint seinen Grund darin zu haben, daſs die Leukozyten dieses Tieres allein befähigt sind, den Milzbrandbazillus zu vernichten.

Zusammenfassung.

1. Die isolierten Meerschweinchenleukozyten sind meist nicht befähigt, den von uns averwendeten virulenten Milzbrandstamm abzutöten. Diese Fähigkeit erlangen sie in Gemeinschaft mit dem an sich ebenfalls unwirksamen Serum. Dasselbe gilt auch für die Knochenmarkemulsion dieses Tieres.
2. Auch Leukozytengefrierextrakte zeigen dasselbe Verhalten, indem sie meist keine Bakterizidie besitzen, wenn sie mit Kochsalzlösung hergestellt sind, im Gegensatz zu den in Serum extrakierten Leukozyten.

3. Es handelt sich hierbei um eine komplexe Wirkung zwischen einem Serumimmunkörper und Leukozytenstoffen, welch letztere mit dem Komplement nicht identisch sind.
4. Die aus den Gefrierextrakten abzentrifugierten Leukozytentrümmer töten Milzbrandbazillen ab, wenn man sie in Meerschweinchenserum aufschwemmt. In Kochsalzlösung wirken sie nicht bakterizid. Da die abgetöteten Leukozyten ihre Stoffe nicht spontan (während 20 Std.) an das Serum abgeben, so kann man sich ihre Bakterizidie so erklären, dafs die mit dem Serumimmunkörper beladenen Milzbrandbazillen eine Affinität zu den Leukozytenstoffen erlangen und letztere aus den Leukozytentrümmern herausbinden, da es ja zu einer Phagozytose nicht kommen kann.
5. Diese aphagozide Leukozytenwirkung läfst sich auch bei den Leukozyten des Huhnes beobachten, nur wirken hier die Leukozytentrümmer auch in Kochsalzlösung, und zwar aus dem Grunde, weil für die Bakterizidie der Huhnleukozyten der Serumimmunkörper nicht nötig ist und deshalb die Milzbrandbazillen auch ohne Sensibilisierung eine Affinität zu den Leukozytenstoffen besitzen. Die Knochenmarkemulsion verhält sich aber ähnlich wie die Leukozyten des Meerschweinchens, indem hier die Extraktrückstände meistens nur in Serum bakterizid wirken.
6. Daraus geht hervor, dafs man sich eine Leukozytenwirkung denken kann, ohne dafs es zu einer Phagozytose zu kommen braucht, was besonders für die Milzbrandinfektion von Interesse ist.

Literatur.

Bail und Pettersson, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 33 u. 35.
Weil, Archiv f. Hygiene. Bd. 70.

Über die Wirkung von Meerschweinchenleukozyten auf Choleravibrionen.

Zur Technik bakterizider Plattenversuche mit Leukozyten.

Von

Dr. **E. Weil** und Dr. **H. Toyosumi.**

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universät in Prag. Vorstand: Prof. F. Hueppe)

Die Vorgänge bei der intraperitonealen Infektion des Meerschweinchens mit Choleravibrionen sind von zahlreichen Forschern sehr genau studiert, doch herrschen betreffs der Art und Weise, wodurch sich dieses Tier der eingespritzten Keime entledigt, Meinungsdifferenzen. Pfeiffer schreibt die Zerstörung der Vibrionen allein den in den Säften vorhandenen komplexen Bakteriolysinen zu, während Metschnikoff die polynukleären Leukozyten sowohl für die Zerstörung der Vibrionen als auch für das Pfeiffersche Phänomen verantwortlich macht, indem seiner Vorstellung gemäfs aus den durch die Infektion geschädigten Mikrophagen die wirksamen Leukozytenstoffe (Komplement) in die freie Flüssigkeit übergehen.

Diejenigen Autoren, welche die Ansicht Metschnikoffs nicht teilen, messen den Leukozyten bei der Cholerainfektion gar keine Bedeutung bei und nehmen sogar an, dafs die in den Leukozyten unzweifelhaft vorhandene Umwandlung der Vibrionen in Granula nur dadurch zustande kommt, dafs die Vibrionen

aus dem Serum mit Bakteriolysin (Immunkörper + Komplement) beladen, von den Leukozyten aufgenommen werden. (Pfeiffer, Pettersson.) Man kann sich jedoch sehr leicht davon überzeugen, dafs selbst bei Abwesenheit von Komplement im Reagenzglase die von den Leukozyten gefressenen Vibrionen in Granula transformiert werden (Weil, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 43). Die Versuche, welche von verschiedenen Autoren angestellt wurden, um eine Keimtötung der Meerschweinchenleukozyten zu erzielen, sind stets negativ verlaufen, so dafs insbesondere Pettersson zu dem Schlusse gelangt, dafs eine solche gar nicht existiert.

Es mufs nun von jedem, der die vorliegende Frage objektiv beurteilt, zugegeben werden, dafs den Leukozyten in der Tat keine Bedeutung bei der Infektion mit Choleravibrionen zukommen könne, wenn es in keiner Weise gelingt, irgendeine Bakterizidie derselben nachzuweisen. Es lag uns vor allem daran, nachdem sich der eine von uns in früheren Versuchen davon überzeugen konnte, dafs man unter bestimmten Bedingungen selbst bei Ausschaltung des Komplementes eine hervorragende Leukozytenwirkung im Tierkörper erzielen kann, zu untersuchen, ob sich die Meerschweinchenleukozyten im Reagenzglase tatsächlich völlig wirkungslos erweisen.

Wir hatten zu Beginn unserer Untersuchungen dieselben negativen Resultate, die sämtliche Autoren hatten, welche sich vor uns mit dieser Frage beschäftigt haben, nur hier und da bemerkten wir einen geringen bakteriziden Effekt. Angesichts dieser wenigen positiven Versuche einerseits, anderseits infolge der sicher vorhandenen Wirkung der Leukozyten im Tierkörper, waren wir davon überzeugt, dafs sich dieselbe auch im Reagenzglase darstellen lassen müsse, und dafs unsere und sämtlicher früherer Autoren negativen Resultate nur auf die angewandte Versuchstechnik zurückzuführen seien.

In den nachfolgenden Zeilen schildern wir die Technik, die uns schliefslich zu positivem Resultate führte.

Die durch intraperitoneale Injektion von 10 ccm Bouillon, gewonnenen Leukozyten werden, um sie von den Exsudat-

resten gründlich zu befreien, dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Die zum Versuche zu verwendende Leukozytenmenge läfst sich auf folgende Weise bestimmen. Nach sorgfältiger Ausspülung der Bauchhöhle werden die Leukozyten nach dem ersten Waschen in eine grofse Eprouvette, die vorher gewogen wurde, vereinigt, zentrifugiert, und nach Entfernung des Waschwassers durch vollständiges Abgiefsen wird das Gewicht des feuchten Bodensatzes bestimmt. Dasselbe beträgt gewöhnlich 0,5 bis 0,6 g. Diese Leukozytenmenge darf auf höchstens vier Röhrchen verteilt werden, so dafs auf ein Röhrchen ungefähr 0,15 g Leukozyten kommen. Nimmt man weniger, z. B. nur die Hälfte der angegebenen Menge, so bekommt man konstant negative Resultate. Die Leukozytenemulsion ist stets zu mikroskopieren, um sich zu überzeugen, dafs sie nicht bakteriell verunreinigt ist, und dafs sie zum gröfsten Teile aus polynukleären Leukozyten besteht. Was die Aufschwemmungsflüssigkeit für die Leukozyten betrifft, so ist dieselbe absolut nicht gleichgültig, da, wie aus den Versuchsprotokollen ersichtlich ist, die Leukozyten in den verschiedenen Flüssigkeiten verschieden wirken. Die Menge der Aufschwemmungsflüssigkeit soll nicht über 0,5 ccm betragen, damit sich die Leukozyten und Bakterien in besserem Kontakt befinden. Die Bakterieneinsaat wurde auf folgende Art ausgeführt: Zu 6 bis 7 ccm steriler Bouillon wurde mit einer 1 ccm Pipette ein Tropfen einer 18stündigen Cholerabouillonkultur gegeben, gut durchgeschüttelt und davon zu jedem Versuchsröhrchen ein Tropfen hinzugefügt. Man mufs sorgfältig darauf achten, dafs man nicht mit der Pipette den Rand der Eprouvette berührt, weil sich dann in diesem Tropfen die Keime vermehren und beim Ausgiefsen mit auf die Platte kommen. Die Bakterienverdünnung wird deshalb in Bouillon vorgenommen, weil in der Kochsalzlösung, die als Aufschwemmungsflüssigkeit der Leukozyten dient, die Vibrionen sich nicht vermehren; der mit der Einsaat hinzugefügte Tropfen von Bouillon genügt jedoch, die Kochsalzlösung in einen ausgezeichneten Nährboden für Choleravibrionen umzuwandeln. Die auf die beschriebene Weise hergestellte Einsaat beträgt

4000 bis 10000, die man dann durch entsprechende Maſsnahmen nach Belieben variieren kann. Die Versuchsröhrchen (15 cm lang, 1 cm im Durchmesser) kommen auf 6 Stunden in den Brutschrank und werden während dieser Zeit alle 15 Minuten einmal durchgeschüttelt, damit die Leukozyten stets gleichmäſsig in der Aufschwemmungsflüssigkeit verteilt sind. Nach dieser Zeit wird der gesamte Inhalt der Röhrchen mit auf 43° abgekühlten Agar überschüttet und zur Platte gegossen. Dieselben bleiben 24 Stunden im Brutschrank und werden nach dieser Zeit gezählt. Die Zählung wurde bis 1000 Kolonien makroskopisch vorgenommen, sonst bei schwacher Vergröſserung mikroskopisch, indem der Durchschnitt zahlreicher Gesichtsfelder mit 1000 multipliziert wurde. Die Zählung wurde stets mit demselben Mikroskop vorgenommen, damit die Zahlen untereinander vergleichbar sind. Es erscheint überflüssig, darauf hinzuweisen, daſs sämtliche Versuche mit strenger Sterilität auszuführen sind.

Um darüber sicher zu sein, daſs mit der von uns angewendeten Technik jeder Nachuntersucher dieselben Resultate erzielt wie wir, hat jeder von uns ganz unabhängig zu verschiedenen Zeiten eine Anzahl von Versuchen angestellt, deren Resultate sich, wie aus den beigegebenen Versuchstabellen hervorgeht, vollkommen decken. Nur der Einheitlichkeit halber wurde die Keimzahlbestimmung stets von demselben (Toyosumi) vorgenommen.

Wir haben, um unsere Versuche mit dem Infektionsprozeſs am lebenden Tiere in Einklang zu bringen, stets mit lebenden Leukozyten gearbeitet, um zu bestimmen, ob zunächst diese über die Fähigkeit verfügen, Choleravibrionen abzutöten oder ihre Entwicklung zu hemmen, was, wie erwähnt, von allen Autoren verneint wird.

Um die isolierte Wirkung der Leukozyten zu studieren, wurden dieselben zunächst in Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Um den Einfluſs der phagozytosebegünstigenden Stoffe zu bestimmen, machten wir einen Zusatz von bakteriolytischem Choleraimmunserum, welches gut bakteriotrop wirkte. Die

Untersuchung bezog sich auf zwei Cholerastämme, von denen der eine, Cholera Pfeiffer, seit Jahren im Institut fortgezüchtet wurde, der andere, Cholera 74, uns von Neufeld freundlichst überlassen wurde. Beide Stämme hatten in letzter Zeit keine Tierpassagen durchgemacht.

Versuch I (Weil).

						Nach 6 Std.
1.	Leukozyten	+	0,5 Na Cl	+	0,01 Immunserum	0
2.	»	+	»	+	0,005 »	10
3.	»	+	»		0	6
4.	0	+	»	+	0,01 I.-S.	18 000
5.	0	+	»	+	0,005 »	9000
6.	0	+	»	+	0 »	40 000
7.	0	+	»	+	0,01 » ohne Einsaat	0

Einsaat Chol. Pfeiffer 160.

Versuch II (Weil).

						Nach 6 Std.
1.	Leukozyten	+	0,5 Na Cl	+	0,005 Immunserum	800
2.	»	+	»	+	0 »	1200
3.	0	+	»	+	0,05 I.-S.	30 000
4.	0	+	»	+	0	60 000
5.	0	+	»	+	0,005 I.-S. ohne Einsaat	0

Einsaat Chol. Pfeiffer 2000.

Versuch III (Weil).

						Nach 6 Std.
1.	Leukozyten	+	0,5 Na Cl	+	0,005 I.-S.	16
2.	»	+	»	+	0	70
3.	0	+	»	+	0,005 »	250 000
4.	0	+	»	+	0	∞
5.	0	+	»	+	0,005 » ohne Einsaat	0

Einsaat Chol. Pfeiffer 350

Versuch IV (Weil).

						Nach 6 Std.
1.	Leukozyten	+	0,5 Na Cl	+	0,01 Immunserum	0
2.	»	+	»	+	0,005 »	0
3.	»	+	»	+	0	0
4.	0	+	»	+	0,01 I.-S.	∞
5.	0	+	»	+	0	∞ ∞
6.	0	+	»	+	0,01 I.-S. ohne Einsaat	0

Einsaat Chol. Pfeiffer 1500.

Versuch V (Weil).

							Nach 6 Std.
1.	Leukozyten	+	0,5 Na Cl	+ 0,01	Immunserum		60
2.	»	+	»	+ 0,005	»		40
3.	»	+	»	+ θ			20
4.	θ	+	»	+ 0,01	I.-S.		∞
5.	θ	+	»	+ 0,005	»		∞
6.	θ	+	»	+ θ			∞
7.	θ	+	»	+ 0,01	»	ohne Einsaat	θ

Einsaat Chol. Pfeiffer 10000.

Versuch VI (Toyosumi).

						Nach 6 Std.
1.	Leukozyten	+	0,5 Na Cl	+ 0,01	Immunserum	476
2.	»	+	»	+ 0,001	»	472
3.	»	+	»	+ θ		848
4.	θ	+	»	+ 0,01	I.-S.	33000
5.	θ	+	»	+ θ		65000

Einsaat Chol. Pfeiffer 616.

Die nachfolgenden Versuche wurden in derselben Anwendung mit dem Cholerastamme 74 ausgeführt.

Versuch VII (Weil).

							Nach 6 Std.
1.	Leukozyten	+	0,5 Na Cl	+ 0,01	Immunserum		300
2.	»	+	»	+ 0,005	»		350
3.	»	+	»	+ θ			80
4.	θ	+	»	+ 0,01	I.-S.		∞
5.	θ	+	»	+ 0,005	»		∞∞∞
6.	θ	+	»	+ 0,01	»	ohne Einsaat	θ
7.	θ	+	»	+ θ			∞∞∞

Einsaat Chol. 74 20000.

Versuch VIII (Weil).

						Nach 6 Std.
1.	Leukozyten	+	0,5 Na Cl	+ 0,05	Immunserum	47
2.	»	+	»	+ θ		3
3.	θ	+	»	+ 0,05	I.-S.	∞
4.	θ	+	»	+ θ		∞

Einsaat Chol. 74 4000.

Versuch IX (Weil).

1	Leukozyten	+	0,5 Na Cl	+	0,05 Immunserum		127
2.	»	+	»	+	0,05	»	136
3.	θ	+	»	+	0,05 I.-S.		∞
4.	θ	+	»	+	θ		∞ ∞ ∞

Einsaat Chol. 74 4000.

Diesen Versuchen gemäſs besitzen die Meerschweinchenleukozyten die Fähigkeit, Choleravibrionen abzutöten. Wenn auch ihre Wirkung in manchen Versuchen keine sehr starke ist, so ist ihre Bakterizidie doch überall unzweifelhaft zu erkennen. Man muſs dabei nur in Erwägung ziehen, daſs in den Aufschwemmungsflüssigkeiten stets eine unendliche Vermehrung zu konstatieren ist, welche die diesen Flüssigkeiten zugesetzten Leukozyten in starkem Maſse hemmen. Eine Verbesserung der Bakterizidie durch Immunserumzusatz wurde nicht erzielt, obgleich das Immunserum in den angewendeten Quantitäten, wie man sich mikroskopisch leicht überzeugen konnte, die Phagozytose leicht sehr stark erhöhte. Es hat den Anschein, als ob die phagozytosebegünstigenden Stoffe für die bakterizide Leukozytentätigkeit nicht von groſser Bedeutung wären, was bereits aus unseren Versuchen bei Schweinerotlauf und denen bei Schweinepestbazillen in sehr ausgesprochener Weise hervorgeht. Wir sehen weiter, daſs beide Cholerastämme den Leukozyten in gleicher Weise unterliegen.

Infolge der Zwecklosigkeit des Immunserumzusatzes haben wir diesen in den weiteren Versuchen weggelassen, dahingegen haben wir die Leukozyten auſser in Kochsalzlösung in Bouillon und inaktivem Serum aufgeschwemmt, welche Flüssigkeiten von den früheren Untersuchern meistens benutzt wurden. In einigen Versuchen kam auch aktives Serum als Aufschwemmungsflüssigkeit zur Anwendung. Auch haben wir in zahlreichen Versuchen Emulsionen verschiedener Organe (Leber, Milz, Niere) in Kochsalzlösung, Bouillon und inaktivem Serum aufgeschwemmt und auf Bakterizidie geprüft, hatten aber stets unendliches Wachstum zu verzeichnen, so daſs wir sie in den einzelnen Versuchen nicht erwähnt haben.

			Versuch X. (Toyosumi)	Versuch XI. (Toyosumi)	Versuch XII. (Toyosumi)
1.	Leukozyten	+ 0,5 Na Cl	θ	1000	1500
2.	»	+ 0,5 Serum	θ	θ	θ
3.	»	+ 0,5 Serum ½ Std. 56°	10 000	100 000	5000
4.	»	+ 0,5 Bouillon	800	∞	∞
5.	θ	0,5 Na Cl	∞ ∞	∞ ∞	∞ ∞
6.	θ	0,5 Serum	120	θ	θ
7.	θ	0,5 Serum 56°	∞	∞	∞
8.	θ	0,5 Bouillon	∞ ∞	∞ ∞ ∞	∞ ∞
9.	θ	0,5 Exsudatflüssigkeit	θ	θ	θ
10.	Einsaat Cholera Pfeiffer		1250	9400	5000

Versuch XIII (Toyosumi).

1.	Leukozyten + 0,5 Na Cl	θ
2.	» + 0,5 Serum	θ
3.	» + 0,5 Serum 56°	3000
4.	» + 0,5 Bouillon	6000
5.	0,5 Na Cl	∞
6.	0,5 Serum	θ
7.	0,5 Serum 56°	∞
8.	0,5 Bouillon	∞
9.	0,5 Exsudatflüssigkeit	θ
10.	Exsudatflüssigkeit 56°	∞

Einsaat Cholera Pfeiffer 3000.

Versuch XIV (Toyosumi).

1.	Leukozyten + 0,5 Na Cl	θ
2.	» + 0,5 Serum	θ
3.	» + 0,5 Serum 56°	vereinzelte Keime
4.	» + 0,5 Bouillon	»
5.	0,5 Na Cl	∞ ∞ ∞
6.	0,5 Serum	vereinzelte Keime
7.	0,5 Serum 56°	∞ ∞ ∞
8.	0,5 Bouillon	∞ ∞ ∞

Einsaat Cholera Pfeiffer 3000.

Versuch XV (Toyosumi).

1.	Leukozyten + 0,5 Na Cl	θ
2.	» + 0,5 Serum	θ
3.	» + 0,5 Serum 56°	θ
4.	» + 0,5 Bouillon	θ
5.	0,5 Na Cl	∞
6.	0,5 Serum	θ

7. 0,5 Serum 56°	300 000
8. 0,5 Bouillon	∞ ∞ ∞
9. 0,5 Exsudatflüssigkeit . . .	θ
10. 0,5 Exsudatflüssigkeit 56° .	350 000
11. 0,5 Vollexsudat	θ
12. 0,5 Vollexsudat 56°	15 000

Einsaat Cholrea Pfeiffer 4400.

Dieselben Versuche wurden, wie nachfolgende Tabellen zeigen, auch mit dem Cholerastamme 74 ausgeführt.

	Versuch XVI. (Toyosumi)	**Versuch XVII.** (Toyosumi)
1. Leukozyten + 0,5 Na Cl . .	100	5000
2. » + 0,5 Serum . .	6000	28 000
3. » + 0,5 Serum 56°	∞	250 000
4. » + 0,5 Bouillon .	∞	∞
5. 0,5 Na Cl	∞ ∞	∞
6. 0,5 Serum	∞	68 000
7. 0,5 Serum 56°	∞ ∞ ∞	∞ ∞
8. 0,5 Bouillon	∞ ∞ ∞	∞ ∞ ∞
9. 0,5 Exsudatflüssigkeit . . .	∞	300 000
10. 0,5 Exsudatflüssigkeit 56° .	∞	∞
11. Einsaat Cholera 74	6000	18 000

Versuch XVIII (Weil).

1. Leukozyten + 0,5 Na Cl . .	θ
2. » + 0,5 Serum 56°	∞
3. » + 0,5 Bouillon .	∞
4. 0,5 Na Cl	∞ ∞ ∞
5. 0,5 Serum	300 000
6. 0,5 Serum 56°	∞ ∞ ∞
7. 0,5 Bouillon	∞ ∞ ∞

Einsaat Cholera 74 2000.

Versuch XIX (Weil).

1. Leukozyten + 0,5 Na Cl . .	θ
2. » + 0,5 Serum . .	θ
3. » + 0,5 Serum 56°	∞
4. » + 0,5 Bouillon .	∞
5. 0,5 Na Cl	∞ ∞
6. 0,5 Serum	80 000
7. 0,5 Serum 56°	∞ ∞
8. 0,5 Bouillon	∞ ∞ ∞
9. 0,5 Exsudatflüssigkeit . . .	100 000

Einsaat Cholera 74 7000.

Versuch XX (Toyosumi).

1.	Leukozyten + 0,5 Na Cl . .	320
2.	» + 0,5 Serum . .	0
3.	» + 0,5 Serum 56°	150 000
4.	» + 0,5 Bouillon .	∞
5.	0,5 Na Cl	∞ ∞
6.	0,5 Serum	0
7.	0,5 Serum 56°	∞
8.	0,5 Bouillon	∞ ∞ ∞
9.	0,5 Vollexsudat	15 000

Einsaat Cholera 74 30 000.

Diese Versuche stimmen zunächst mit den früheren darin überein, dafs konstant die Leukozyten, in Kochsalzlösung suspendiert, Choleravibrionen abtöten, ohne dafs phakozytosebeförderndes Immunserum die Vibrionen beeinflufst. Diesbezüglich verhalten sich beide Cholerastämme gleich. Eine Differenz tritt aber in der Serumbakterizidie gegenüber beiden Stämmen auf, dahingehend, dafs Cholera 74 oft vom normalen Meerschweinchenserum nicht abgetötet wird. Da aber auch in diesen Versuchen die isolierten Leukozyten bakterizid sind, so fällt damit der Einwand, der allerdings auch ohnedies wenig Berechtigung hätte, dafs die Leukozytenbakterizidie auf anhaftende Serumreste zurückzuführen sei, welche durch dreimaliges Waschen nicht genügend entfernt wurden.

Diese Versuche zeigen weiter, dafs die Aufschwemmungsflüssigkeit für die Keimtötung der Leukozyten von grofser Bedeutung ist; denn Cholera Pfeiffer wird oft in Bouillon und inaktiviertem Serum von den Leukozyten nicht zerstört, konstant ist dies aber bei Cholera 74 der Fall. Da die früheren Untersucher meist diese beiden Flüssigkeiten gewählt haben, so hängen vielleicht ihre negativen Versuche damit auch teilweise zusammen. Es läfst sich schwer eine sichere Entscheidung treffen, weshalb die Leukozytenbakterizidie in Bouillon und inaktiviertem Serum meistens versagt. Die Ursache hierfür dürfte nicht eine einheitliche sein. Der nächstliegende Erklärungsversuch wäre der, dafs die Bouillon und inaktiviertes Serum einen so guten Nährboden abgeben, dafs sie die Leukozytenwirkung paralysieren. Nun mufs man aber einerseits in Betracht

ziehen, dafs die Kochsalzlösung mit dem durch die Einsaat hinzugesetzten Tropfen Bouillon einen so ausgezeichneten Nährboden für Choleravibrionen abgibt, dafs sich die geringste eingesäte Menge in 6 Stunden bis auf unendlich vermehrt, anderseits aber ist dem Bakterienwachstum nach das inaktivierte Serum öfters kein besserer Nährboden für die Choleravibrionen als die von uns angewandte Kochsalzlösung. Bei der Bouillonaufschwemmung kann vielleicht der Umstand eine Rolle spielen, dafs die Leukozyten nicht, wie in der Kochsalzlösung, eine gleichmäfsige Emulsion bilden, sondern meist in Klumpen rasch zu Boden sinken. Dasselbe tritt auch bei inaktiviertem Serum auf, und vielleicht liegt auch darin ein Teil der Leukozytenbeeinträchtigung. Bei der Behinderung der Leukozytenwirkung durch Serum scheinen sich auch antagonistische Einflüsse geltend zu machen, indem manchmal im aktiven Serum die Leukozyten viel schlechter wirken als in der Kochsalzlösung (Versuch XVI, XVII), obzwar ersteres einen schlechteren Nährboden abgibt als letztere. Jedenfalls wagen wir es nicht, uns nach der einen oder anderen Richtung hin mit Sicherheit zu entscheiden.[1])

Jedenfalls aber können wir auf Grund der Tatsache, dafs verhältnismäfsig geringfügige störende Momente, die in den Aufschwemmungsflüssigkeiten vorhanden sind, die Leukozytenbakterizidie schon stark beeinträchtigen, schliefsen, dafs die Leukozytenwirkung gegen Choleravibrionen keine starke ist. Denn wenn sie es wäre, so würden die Leukozyten in allen Flüssigkeiten wirken, wie wir das von anderen Mikroorganismen her wissen (Proteus-Pettersson, Milzbrand-Huhn).

Auf Grund dieser Feststellung, dafs die Leukozyten allein, ohne Mitwirkung der Säfte, Choleravibrionen abtöten, was mit unseren früheren Versuchen im Tierkörper vollkommen übereinstimmt, müssen wir der Frage nähertreten, welche Bedeutung den Leukozyten bei der Cholera-Immunität des Meer-

---

1) Anm. b. d. Korrektur: Auch hierbei ist an die wichtige Feststellung von Schneider (dieses Archiv, Bd. 70) bezüglich des Mediums für die Leukozytenwirkung zu denken.

schweinchens zukommt, ob sie hierbei die Hauptrolle oder nur eine untergeordnete Rolle spielen. Diese Frage läſst sich nicht einheitlich beantworten. So wird die natürliche Widerstandsfähigkeit dort, wo die Säfte stark wirksam sind, wie bei Cholera Pfeiffer, hauptsächlich auf Säftebakterizidie beruhen, während bei Cholera 74 den Leukozyten ein gröſserer Anteil zugeschrieben werden muſs. Dahingegen aber ist die künstlich erzeugte Immunität gegen Cholera, das Pfeiffersche Phänomen, wohl ausschlieſslich auf reine Säftewirkung zurückzuführen. Denn die mit Immunkörper beladenen Vibrionen werden in der Bauchhöhle sehr rasch aufgelöst und sind meist schon verschwunden, wenn die Leukozyten erscheinen. Auch das für die Vibrionenauflösung nötige Komplement kann nicht im Sinne Metschnikoffs von den Leukozyten geliefert werden, da dieselben gar keines besitzen; denn die bakteriziden Stoffe der Leukozyten sind, wie aus der nachfolgenden Mitteilung Nunokawas hervorgeht, von den Säftebakteriolysinen vollkommen verschieden. Auch die gänzliche Auflösung der Granula muſs nicht, wie Metschnikoff meint, in den Leukozyten erfolgen, sondern kann wohl, nach der Ansicht Pfeiffers, in den Säften stattfinden. Auch Bail und Tsuda konnten sich davon überzeugen, daſs das Serum allein eine vollkommene Transformierung der Granula in eine formlose Masse (tertiäre Cholerasubstanz) bedingt. Daſs den Leukozyten entgiftende Fähigkeiten bei Cholera zukommen, ist nicht zu leugnen, für die Unterdrückung der Infektion bei immunisierten Tieren spielen sie wohl eine untergeordnete Rolle.

Dahingegen scheint die Bakterizidie der Leukozyten nach einer anderen Richtung hin von Bedeutung zu sein. Bekanntlich sind die meisten auf künstlichen Nährböden fortgezüchteten Choleravibrionen so avirulent, daſs meistens eine ganze Öse, oft auch noch mehr nötig ist, um ein kleines Meerschweinchen zu töten. Doch gelingt es konstant, durch Tierpassagen die Virulenz derartiger Stämme zu erhöhen. Diese Virulenzsteigerung aber ist stets eine beschränkte, indem es meist nicht gelingt, dieselbe höher als auf $^1/_{10}$-Öse zu bringen. Ist nun

die Virulenzsteigerung dadurch bedingt, daſs die tierpassierten Keime mehr Immunkörper binden (Pfeiffer und Friedberger), wodurch ein Teil der eingespritzten Keime der Säftewirkung entgeht, oder dadurch, daſs die Bakterien infolge Serumfestigkeit gegen die Bakteriolysine widerstandsfähig werden, immer handelt es sich bei jenen Mikroorganismen, welche der Bakteriolyse zugänglich sind, um eine Immunisierung gegen die keimfeindlichen Körperflüssigkeiten. Wenn aber auſser den Säften noch die Leukozyten wirksam sind, so ist der Virulenzsteigerung eine Schranke gesetzt, da, wie wir in der vorangehenden Mitteilung dargelegt haben, durch Tierpassage eine Gewöhnung an die bakteriziden Leukozytenstoffe nicht eintreten kann. Wenn man also mit $^1/_{10}$-Öse virulenter Cholera infiziert, so wird die Vermehrung sofort einsetzen und wird zur Zeit des Eintrittes der Leukozyten in die Bauchhöhle so weit gediehen sein, daſs die Vibrionenmenge entweder durch ihre Giftigkeit die Leukozyten fernhält, oder daſs die einströmenden Leukozyten gegen die Bakterienüberzahl versagen. Wird die Infektion mit einer geringeren Dosis vorgenommen, so wird die Vermehrung eine entsprechend langsamere sein, so daſs in diesem Falle die einströmenden Leukozyten die Vibrionen aufnehmen und abtöten, eine Erscheinung, die uns unter dem Bilde der leichten und überwundenen Infektion bekannt ist. Da nun, wie bereits erwähnt und erörtert, Bakterien gegen die keimfeindliche Leukozytenwirkung nicht unempfindlich werden, so liegt unserer Ansicht nach die Bedeutung der Leukozytenbakterizidie bei Cholera in ihrer die Virulenzsteigerung beschränkenden Fähigkeit.

Zusammenfassung.

1. Die isolierten lebenden Leukozyten des Meerschweinchens töten Choleravibrionen ab.
2. Durch Zusatz von phagozytosebegünstigendem Choleraimmunserum wird die Leukozytenbakterizidie nicht verstärkt.

3. Die beste Leukozytenwirkung erzielt man in Kochsalzlösung als Aufschwemmungsflüssigkeit, in Bouillon und inaktiviertem Serum versagen die Leukozyten meistens. Eine sichere Erklärung hierfür können wir nicht geben.
4. Den Leukozyten kommt keine wesentliche Bedeutung für die Auslösung des Pfeifferschen Phänomens zu, welches auf reine Säftewirkung durch Immunkörper und Komplement bedingt ist. Diese beiden Stoffe sind im Serum gelöst und stammen nicht aus den Leukozyten.
5. Die Bedeutung der Leukozytenbakterizidie bei Cholera scheint darin zu liegen, dafs es nicht gelingt, die Virulenz von Choleravibrionen über eine beschränkte Höhe zu bringen.

Literatur.

Bail u. Tsuda, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. I, H. 4.
Pettersson, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 39, H. 4 u. 5.
Weil, Zentralbl. f. Bakt., Bd. 43.

Untersuchungen über die bakteriziden Stoffe der Meerschweinchenleukozyten gegen Choleravibrionen.

Von

Dr. **Kohsaku Nunokawa**
aus Japan.

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.
Vorstand: Prof. Hueppe.)

Die Untersuchungen, über die Ursprungsstelle des hämolytischen und bakteriolytischen Komplementes Aufschlufs zu erlangen, haben zu keinem eindeutigen Resultat geführt. Metschnikoff glaubte zunächst in den Leukozyten und zwar in den Makrophagen das hämolytische Komplement gefunden zu haben. Demgegenüber haben aber Morgenrot und Korschun gezeigt, dafs es sich hiebei um kochbeständige Substanzen handle, welche vom Serumkomplement völlig verschieden sind. Diese Differenz glaubte Levaditi dadurch aufgeklärt zu haben, dafs er je nach der Extraktionsmethode verschiedenartige hämolytische Stoffe gewann. Bei langdauernder Extraktion zeigten die Extrakte die von Morgenrot und Korschun beschriebenen Eigenschaften, bei kurzdauernder aber erhielt er Hämolysine, welche alle Eigentümlichkeiten der im Serum vorkommenden aufwiesen. Diese Experimente von Levaditi konnten von Weil[1]) nicht bestätigt werden, indem es in keiner Weise gelang, in Milz und Knochenmark des Meerschweinchens durch die Methode Levaditis thermolabiles hämolytisches Komplement gegen sensibilisierte Hammelblutkörperchen aufzufinden. Da jedoch das Meer-

1) Anm. b. d. Korrektur. Ebenso nicht von Schneider (Archiv für Hygiene, Bd. 70).

schweinchenserum in geringster Menge dieses besitzt, so kann sein Komplement unmöglich aus den makrophagenhaltigen Organen stammen. Durch diese Experimente hat die durch die Versuche Levaditis gestützte Anschauung Metschnikoffs keine Bestätigung erfahren.

Auch bezüglich des bakteriolytischen Serumkomplements glaubten Metschnikoff und seine Anhänger die Leukozyten als Bildungsstätte ansehen zu müssen, und zwar die kleinen polynukleären Leukozyten, von Metschnikoff Mikrophagen genannt. Wiederum hat Levaditi diese Vorstellung Metschnikoffs experimentell gestützt, indem er in Auszügen polynukleärer Leukozyten Substanzen nachwies, welche sowohl an sich Choleravibrionen in Granula transformierten, als insbesondere dann, wenn die Vibrionen mit spezifischen bakteriolytischen Immunkörpern sensibilisiert worden waren.

Allerdings hat unseres Wissens Levaditi die Identität der Extraktstoffe mit dem Serumkomplemente nicht dadurch nachgewiesen, dafs die Extraktwirkung der Inaktivierungstemperatur nicht widersteht. Auch diese Versuche von Levaditi haben keine Bestätigung gefunden; so ist es Ascher niemals gelungen, aus gut gewaschenen Meerschweinchenleukozyten komplementartige Stoffe zu gewinnen, welche das Pfeiffersche Phänomen ausgelöst haben. Lambotte und Stiennon gelangten auf Grund ihrer Experimente zu demselben Resultate. Von theoretischen Erwägungen ausgehend und zum Teil durch Versuche geleitet, hat sich auch Neufeld in jüngster Zeit gegen die Identität der Leukozyten- und Serumstoffe ausgesprochen. Selbst in Metschnikoffs Laboratorium hat Korschun niemals durch Leukozytenextrakte von Kaninchen, welche an sich Typhusbazillen abtöten, eine Verstärkung der Bakterizidie gesehen, wenn er bakteriolytische Immunkörper hinzusetzte; also ist es auch ihm nicht geglückt, in den Exsudatleukozyten Komplement aufzufinden.

Da der ganze Streit bezüglich der Herkunft des bakteriolytischen Komplementes bei der Cholerainfektion des Meerschweinchens entstanden war, da gerade hier Metschnikoff

die Behauptung ausgesprochen hatte, dafs das Pfeiffersche Phänomen durch das aus den polynukleären Leukozyten frei werdende Komplement zustande kommt, so wäre es von Interesse gegenüber Cholera, diese Verhältnisse zu untersuchen. Nun ist es aber den meisten Autoren bisher nicht gelungen, aus den Meerschweinchenleukozyten Stoffe zu extrahieren, welche Choleravibrionen derart abtöten, dafs ihre Wirkung auf der Platte zum Ausdrucke kommt. Erst Weil und Toyosumi konnten durch die von ihnen angewandte Versuchstechnik konstant eine bakterientötende Wirkung der lebenden Meerschweinchenleukozyten auf Choleravibrionen erzielen. Mir schien nun von Wichtigkeit, einmal zu prüfen, ob sich mit Hilfe dieser Technik aus den Leukozyten antibakteriell wirkende Stoffe gewinnen lassen, welchen die lebenden Leukozyten ihre Bakterizidie verdanken und im bejahenden Falle, ob man die Keimtötung durch dieselben mit dem bakteriziden Serumkomplement, wie es Metschnikoff meint, identifizieren kann. Wir wählten zur Extraktion der Leukozyten die bewährte Buchnersche Methode, indem wir die dreimal gewaschenen weifsen Blutkörperchen, die durch intraperitoneale Bouilloninjektion gewonnen waren, dreimal je eine Stunde in Kochsalzlösung in der Eiskochsalzmischung eingefrieren liefsen, jedesmal rasch bei 37 °C auftauten und hierauf über Nacht bei 37 °C beliefsen. Am nächsten Tage wurden die Leukozytentrümmer abzentrifugiert und die klare Flüssigkeit zum bakteriziden Versuche verwendet. Dieselben wurden weiter genau in der Weise ausgeführt, wie es von Weil und Toyosumi in der vorangehenden Mitteilung beschrieben wurde. Wie aus den anbei folgenden Versuchsprotokollen ersichtlich ist, wurde nicht nur Kochsalzlösung, sondern auch Bouillonextrakte verwendet. Jedesmal wurde die Reaktion der betreffenden Extrakte geprüft.

Die Kochsalzextrakte reagierten neutral, die Bouillonextrakte wiesen die Reaktion der Bouillon auf. Es ist bei jedem Versuche angegeben, eine wie grofse Menge von Leukozyten jedesmal angewendet wurde, denn das Resultat der Versuche ist nur dann ein günstiges, wenn eine sehr grofse Masse von Leukozyten extrahiert wurde. Wir haben in den folgenden Protokollen

nur die positiven Versuche mitgeteilt, wollen aber nicht unerwähnt lassen, dafs wir bei 4 Versuchen keine bakterizide Wirkung der Leukozyten konstatieren konnten, was ein Beweis dafür ist, dafs gegenüber Choleravibrionen die Leukozyten keine sehr starke Bakterizidie aufweisen. Als Einsaat wählten wir den Stamm Cholera Pfeiffer.

Versuch I.

Leukozyten von 1 Meerschweinchen, extrahiert in 2,5 ccm physiolog. Kochsalzlösung.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Extrakt	4 300
1 » » (1/2 Stunde auf 56° erhitzt)	0
1 » Kochsalzlösung	∞

Einsaat 1 000.

Versuch II.

Extrakt wie in Versuch I hergestellt.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Extrakt	2 700
1 » » (1/2 Stunde auf 56° erhitzt)	108
1 » Kochsalzlösung	∞

Einsaat 1 670.

Versuch III.

Extrakt wie in Versuch I.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Extrakt	2 788
1 » » (1/2 Stunde auf 56° erhitzt)	1 500
1 » Kochsalzlösung	∞

Einsaat 1 166.

Versuch IV.

Leukozyten von 2 Meerschweinchen, extrahiert in 2,5 ccm physiolog. Kochsalzlösung.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Extrakt	0
1 » » (1/2 Stunde auf 56° erhitzt)	0
1 » Kochsalzlösung	∞

Einsaat 6 200.

Aus den drei ersten Versuchen geht hervor, dafs die Leukozytenextrakte die Fähigkeit besitzen, das Wachstum der Choleravibrionen sehr stark zu hemmen, wenn es auch zu keiner Abtötung gekommen ist. Wir müssen dabei in Betracht ziehen,

dafs in der Kochsalzkontrolle eine enorme starke Vermehrung stattgefunden hat, woraus sich die Berechtigung zu dem Schlufs ergibt, dafs die Kochsalzextrakte eine beträchtliche Wirkung aufweisen. Dafs die Wirksamkeit der Extrakte nicht so stark ist und nur gegenüber einer kleineren Einsaat hervortritt wie bei den lebenden Leukozyten, dürfte daran liegen, dafs die Leukozyten nicht ihre gesamten wirksamen Stoffe an die Extraktionsflüssigkeit abgeben, sondern einen Teil in ihrem Leibe zurückbehalten, welche aber, da wir die abgetöteten Leukozytentrümmer abzentrifugiert haben, nicht wirken können. Dafs tote Leukozyten ebenfalls Bakterizidie aufweisen können, geht sowohl aus den Versuchen von Weil bei Schweinerotlauf als von Tsuda bei Milzbrand hervor. Die Erwärmung auf 56° C hat bei dem ersten Versuche die Bakterizidie bedeutend verstärkt, was von den bakteriziden Leukozytenstoffen bereits bekannt ist. Schon dieser Umstand spricht gegen die Identität der wirksamen Leukozytenstoffe mit dem Serumkomplement. Weiters kann man aus dieser Tatsache dem Einwand begegnen, dafs die wachstumhemmende Fähigkeit der Extrakte vielleicht auf ausgelaugte komplementhaltige Exsudatflüssigkeit zurückgeführt werden könne, denn diese würde der Inaktivierungstemperatur nicht widerstehen. In Versuch IV weisen die Leukozytenextrakte eine starke Bakterizidie auf und zwar aus dem Grunde, weil wir hier die doppelte Menge von Leukozyten zur Extraktion verwendet haben.

In den folgenden Versuchen wollten wir uns davon überzeugen, welche Rolle das Immunserum für die Bakterizidie der Extrakte spielt, da in dem Falle, als letztere einen komplementären Anteil besitzen würden, das Immunserum die Extraktwirkung bedeutend verstärken müfste.

Versuch V.

Leukozyten von 1 Meerschweinchen, extrahiert in 4,5 ccm phys. Kochsalzlösung.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Extrakt	3 820
1 » » + 0,01 Choleraimmunserum	2 160
1 » » (1/2 Std. auf 56° erhitzt)	2 520
1 » » (1/2 » » 56° ») + 0,01 Choleraimmunserum	2 240

1 ccm Kochsalzlösung		∞
1 » »	+ 0,01 Choleraimmunserum	40 000
1 » »	+ 0,01 » ohne Einsaat	θ

Einsaat 1 120.

Versuch VI.

Leukozyten von 1 Meerschweinchen, extrahiert wie Versuch V.

1 ccm Extrakt		2 800
1 » »	+ 0,01 Choleraimmunserum	2 230
1 » »	(1/2 Std. auf 56° erhitzt)	1 420
1 » »	(1/2 » » 56° ») + 0,01 Choleraimmunserum	2 250
1 » Kochsalzlösung		∞
1 » »	+ 0,01 Choleraimmunserum	11 000
1 » »	+ 0,01 » ohne Einsaat	θ

Einsaat 1 360.

Versuch VII.

Leukozyten von 2 Meerschweinchen, verarbeitet wie Versuch VI.

		Nach 6 Stunden
1 ccm Extrakt		2
1 » »	+ 0,01 Choleraimmunserum	120
1 » »	(1/2 Std. auf 56° erhitzt)	68
1 » »	(1/2 » » 56° ») + 0,01 Choleraimmunserum	3 500
1 » Kochsalzlösung		∞
1 » »	+ 0,01 Choleraimmunserum	29 000
1 » »	+ 0,01 » ohne Einsaat	θ

Einsaat 1 200.

Versuch VIII.

Leukozyten von 3 Meerschweinchen, verarbeitet wie Versuch VI.

1 ccm Extrakt		20
1 » »	+ 0,01 Choleraimmunserum	38
1 » »	(1/2 Std. auf 56° erhitzt)	40
1 » »	(1/2 » » 56° ») + 0,01 Choleraimmunserum	30
1 » Kochsalzlösung		∞
1 » »	+ 0,01 Choleraimmunserum	∞
1 » »	+ 0,01 » ohne Einsaat	θ

Einsaat 3 400.

Die Versuche zeigen jedoch eindeutig, daſs das Immunserum in keiner Weise die Fähigkeit besitzt, die keimtötende Wirkung der Extrakte zu verbessern. Obzwar dasselbe, wie aus der Koch-

salzkontrolle hervorgeht, eine nicht so starke Vermehrung zuläfst wie die Kochsalzlösung allein, was wohl an seiner Agglutinationskraft gelegen sein mag, so ist doch in jenen Proben, wo das Immunserum hinzugefügt wird, von einer stärkeren Bakterizidie meist nichts zu sehen. Wir können daraus mit grofser Sicherheit den Schlufs ziehen, dafs die in den Leukozyten enthaltenen keimfeindlichen Stoffe vom Serumkomplement völlig verschieden sind, dafs es sich sonach bei der Bakterizidie durch die Leukozytenstoffe um einen ganz anderen Vorgang handelt, als bei der in den Säften vor sich gehenden Auflösung der Choleravibrionen durch die komplexen Bakteriolysine. Demnach haben bei der Auslösung des Pfeifferschen Phänomens in der Bauchhöhle des choleraimmunen Meerschweinchens die Leukozyten oder deren Stoffe den allergeringsten Anteil. Es scheint demnach, dafs das Komplement, welchem der Hauptteil an der Auflösung sensibilisierter Vibrionen zugeschrieben werden mufs, gelöst in den Säften vorhanden ist.

Da aus den Versuchen von Weil und Toyosumi hervorgeht, dafs die lebenden Leukozyten im inaktivierten Serum nicht oder sehr schlecht wirken, so wollten wir dasselbe des theoretischen Interesses halber auch bezüglich der Extrakte untersuchen. Gleichzeitig wollten wir auch Bouillonextrakte herstellen, weil die lebenden Leukozyten auch mit Bouillon manchmal versagten. Extrakte aus Leber und Milz wiesen nie eine Spur von bakterizider Fähigkeit auf, sondern liefsen stets ein ungehemmtes Wachstum zu.

Versuch IX.

Leukozyten von 2 Meerschweinchen, verarbeitet wie Versuch VI, und zwar in Bouillonextrakt.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Bouillonextrakt	880
1 » » + 0,01 Choleraimmunserum	1 520
1 » » (1/2 Std. auf 56° erhitzt)	496
1 » » (1/2 » » 56° ») + 0,01 Choleraimmunserum	1 180
1 » Bouillon	80 000
1 » » + 0,01 Choleraimmunserum	∞
1 » » + 0,01 » ohne Einsaat	0

Einsaat 1 120.

Versuch X.

Leukozyten von 3 Meerschweinchen, in zwei gleiche Teile geteilt und die eine Hälfte extrahiert mit 4,5 ccm phys. Kochsalzlösung, die andere mit 4,5 ccm Bouillon.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Kochsalzextrakt	908
1 › › + 0,01 Choleraimmunserum	800
1 › › ($^1/_2$ Std. auf 56° erhitzt)	1 244
1 › › ($^1/_2$ › › 56° ›) + 0,01 Cholera-immunserum	560
1 › Bouillonextrakt	332
1 › › + 0,01 Choleraimmunserum	188
1 › › ($^1/_2$ Std. auf 56° erhitzt)	328
1 › › ($^1/_2$ › › 56° ›) + 0,01 Cholera-immunserum	480
1 › Kochsalzlösung	∞
1 › › + 0,01 Choleraimmunserum	34 000
1 › › + 0,01 › ohne Einsaat	0
1 › Bouillon . . . . ca.	120 000
1 › › + 0,01 Choleraimmunserum	13 000

Einsaat 928.

Versuch XI.

Leukozyten von 3 Meerschweinchen, verarbeitet wie Versuch X.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Kochsalzextrakt	2 100
1 › › + 0,01 Choleraimmunserum	1 400
1 › › ($^1/_2$ Std. auf 56° erhitzt)	3 080
1 › › ($^1/_2$ › › 56° ›) + 0,01 Cholera-immunserum	960
1 › Extrakt mit inaktiviertem Meerschweinchenserum .	96 000
1 › › › › › + 0,01 Choleraimmunserum	81 000
1 › Extrakt mit inaktiviertem Meerschweinchenserum ($^1/_2$ Std. auf 56° erhitzt)	42 000
1 › Extrakt mit inaktiviertem Meerschweinchenserum ($^1/_2$ Std. auf 56° erhitzt) + 0,01 Choleraimmunserum	52 000
1 › Kochsalzlösung	∞
1 › › + 0,01 Choleriammunserum	30 000
1 › › + 0,01 › ohne Einsaat	0
1 › Inaktiviertes Meerschweinchenserum	∞
1 › › › + 0,01 Cholera-immunserum	∞

Einsaat 1 400.

Versuch XII.

Leukozyten von 3 Meerschweinchen wurden in zwei gleiche Teile geteilt, die eine Hälfte mit 4,5 ccm Kochsalzlösung und die andere mit 4,5 ccm Bouillon extrahiert.

	Nach 6 Stunden
1 ccm Kochsalzextrakt	17
1 » » + 0,01 Choleraimmunserum	105
1 » » (1/2 Std. auf 56° erhitzt)	26
1 » » (1/2 » » 56° ») + 0,01 Cholera-immunserum	136
1 » Bouillonextrakt	112
1 » » + 0,01 Choleraimmunserum	122
1 » » (1/2 Std. auf 56° erhitzt)	144
1 » » (1/2 » » 56° ») + 0,01 Cholera-immunserum	138
1 » Kochsalzlösung	∞
1 » » + 0,01 Choleraimmunserum . . ca.	120 000
1 » » + 0,01 » ohne Einsaat	0
1 » Bouillon . . . ca.	120 000
1 » » + 0,01 Choleraimmunserum	13 000

Einsaat 928.

Diesem Versuche entnimmt man, dafs die Bouillonextrakte genau in derselben Weise wirken wie die Kochsalzextrakte. Eine Erklärung dieser Differenz in den lebenden Leukozyten läfst sich nur sehr schwer geben. Es ist jedoch nicht unwahrscheinlich, dafs durch die gewaltsame Extraktion die bakteriziden Leukozytenstoffe an die Kochsalzlösung abgegeben werden, während bei den lebenden Leukozyten die Bouillon öfters die Abgabe derselben beeinträchtigt. Die Extrakte im inaktivierten Serum in Versuch XI sind jedoch völlig wirkungslos und stimmen diesbezüglich mit den lebenden Leukozyten überein.

Zusammenfassung.

1. Es gelingt durch Eingefrieren der Meerschweinchenleukozyten (Buchnersche Methode) aus diesen Stoffe zu gewinnen, welche Choleravibrionen abzutöten resp. ihr Wachstum zu hemmen befähigt sind.
2. Die Erwärmung auf 56° schwächt die Wirkung dieser Stoffe nicht nur nicht ab, sondern verstärkt sie öfters ganz deutlich.

3. Zusatz von bakteriolytischem Choleraimmunserum ist nicht imstande, die Bakterizidie der Leukozytenstoffe zu verbessern.
4. Diese Stoffe sind am besten in Kochsalzlösung extrahierbar, doch eignet sich auch Bouillon, inaktiviertes Serum ist ungeeignet.
5. Diese Leukozytenstoffe sind vom bakteriolytischen Komplement völlig verschieden und ihre Bakterizidie verläuft auf andere Weise als die durch den bakteriolytischen Immunkörper + Serumkomplement hervorgerufene Bakteriolyse.

Literatur.

Ascher, Die Leukozyten als Komplementbilder bei der Cholerainfektion. Zentralblatt für Bakteriologie. Bd. 32, 1902.

Korschun, Sur L'action bactericidé de L'extrait leucocytaire des lapins et des cobayes. Annales de l'Institut Pasteur, 1908.

Lambotte und Stiennon, Alexine et Leukocytes. Zentralblatt f. Bakteriologie. Bd. 40, 1906.

Levaditi, Et des organismus vaccines le vibrion cholerique. Annales de l'Institut Pasteur, 1901.

Metschnikoff, Immunität bei Infektionskrankheiten.

Morgenroth und Korschun, Berlin. klin. Wochenschr., 1902, Nr. 37.

Neufeld, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, 1908.

Tsuda, diese Zeitschrift, dieses Heft.

Weil, diese Zeitschrift, dieses Heft.

Untersuchungen über die Wirkung der Meerschweinchenleukozyten auf Staphylokokken, Streptokokken und Schweinepestbazillen.

Von

Dr. **H. Toyosumi** (Tokio, Japan).

(Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. F. Hueppe.)

Nachdem durch die vorangehenden Untersuchungen von Weil und Toyosumi festgestellt war, dafs die Leukozyten des Meerschweinchens die Fähigkeit besitzen, Choleravibrionen abzutöten, so war es von Interesse, auch andere Mikroorganismen diesbezüglich zu untersuchen. Da es den meisten Autoren, die sich vor uns mit derselben Frage beschäftigt haben, nicht geglückt war, eine Bakterizidie der Meerschweinchenleukozyten gegenüber Choleravibrionen zu erzielen, so haben wir für diesen Umstand die von uns angewandte Versuchstechnik, welche die Verhältnisse im Tierkörper möglichst nachahmt, verantwortlich gemacht. Die Experimente, die wir nun auszuführen gedachten, beziehen sich auf Mikroorganismen, gegenüber welchen eine Abtötung durch Meerschweinchenleukozyten bisher nicht mit Sicherheit konstatiert wurde. Wir wollten auf diese Weise bestimmen, ob die Ursache hievon das Fehlen der bakteriziden Fähigkeit der Leukozyten sei, oder ob die Versuchstechnik daran die Schuld trage; denn derartige Versuche schienen uns deshalb von Wichtigkeit, weil es durch sie vielleicht möglich wäre, aus dem Reagenzglasversuche einen Rückschlufs auf die Infektionsmöglichkeit verschiedener Mikroorganismen zu ziehen.

Bezüglich der Versuchstechnik müssen wir auf die genauere Schilderung derselben in der vorangehenden Publikation von Weil und Toyosumi verweisen.

Wir wählten zunächst Staphylokokken, weil gerade in jüngster Zeit Baumgarten jegliche keimfeindliche Wirkung der Leukozyten geleugnet hatte, und auch Neufeld behauptete, dafs gegenüber Staphylokokken eine Bakterizidie der Leukozyten nicht bestehe.

Die Versuchsanordnung war im ganzen dieselbe wie bei Cholera, indem wir die lebenden Leukozyten in Kochsalzlösung, Bouillon, aktivem und inaktivem Serum aufschwemmten. Als Einsaat wählten wir immer Bouillonkultur, ca. 16—20 Stunden alt. Zuerst wurde davon ein Tropfen mit einer dünnen Pipette

Tabelle I.

Bakterizide Versuche mit Staphylococcus albus (aus Osteomyelitis gezüchtet).

	Versuch									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Leukozyten in 0,5 NaCl-Lösung	5 400	21 400	16 400	2 496	16 800	3 984	4 000	300	62	110
Leukozyten in 0,5 Bouillon	—	—	—	920	—	4 000	—	—	—	—
Leukozyten in 0,5 Serum	500	3 100	800	864	5 200	2 688	500	86	steril	107
Leukozyten in 0,5 Serum, 56°	—	—	—	1 824	—	—	—	100	90	208
0,5 NaCl-Lösung	∞	∞	400 000	∞	∞	∞∞	∞	800 000	80 000	37 800
0,5 Bouillon	—	—	—	60 000	—	∞∞	—	—	—	—
0,5 Serum	36 600	31 800	120 000	20 000	113 200	100 000	200 000	14 800	1 250	4 100
0,5 Serum, 56°	—	—	—	20 800	—	120 000	300 000	21 000	1 300	3 500
0,5 Vollexsudat	—	—	—	10	300	—	—	—	steril	steril
0,5 Vollexsud. 56°	—	—	—	—	—	—	—	—	steril	—
0,5 Exsudat flüssigkeit	—	2 848	4 656	1 096	—	—	6 000	—	282	—
0,5 Exsudatflüssigkeit, 56°	—	—	—	5 200	—	—	∞	—	300	—
Einsaat	5 600	17 200	8 000	24 000	46 000	12 000	6 000	950	904	1 900

Anmerkung. Bei diesen, wie auch den sämtlichen später mitzuteilenden bakteriziden Versuchen wurden die Platten jedesmal nach 6 Std. Aufenthalt bei 37° C gegossen.

in die frische sterilisierte Bouillon (etwa 6—8 ccm) gegeben und entweder direkt von dieser Aufschwemmung oder von der durch nochmalige Verdünnung mit Bouillon gewonnenen Aufschwemmung ein Tropfen zur Einsaat benutzt. Niemals wurde die Agarkultur angewandt, denn wir fanden in unseren zahlreichen Untersuchungen, dafs die Bouillonkultur sich als geeignet erwies und zwar deshalb, weil man bei einiger Übung stets die gewünschte Gröfse der Einsaat leicht herstellen kann.

Wenn wir die Versuchsprotokolle überblicken, so zeigt sich zunächst eine auffallende Erscheinung. Obzwar im aktiven Serum eine Abtötung nicht zustande kommt, sondern in den meisten Fällen eine Vermehrung zu konstatieren ist, so ist dieselbe doch nicht so stark, wie in der Kochsalzlösung, der ein Tropfen Bouillon zugesetzt ist. Wir können nicht entscheiden, ob es sich hiebei um eine wirkliche Vermehrung oder um einen Zerfall der Kokkenhaufen handelt (Pettersson), was dann eine Vermehrung vortäuschen würde. Was die Wirkung der Leukozyten betrifft, so ist dieselbe am stärksten im Serum, während in der Kochsalzlösung die Leukozyten öfters nur in geringem Mafse, manchmal auch gar nicht die Staphylokokken abtöten.

Tabelle II.

Bakterizide Versuche mit Staphylococcus aureus (aus Karbunkel gezüchtet).

	Versuch									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Leukozyten in 0,5 NaCl-Lösung . .	15 000	20 000	1 600	3 000	22 000	16 400	120 000	49 600	200	488
Leukozyten in 0,5 Serum	70	1 000	5	300	200	4 000	570	5 000	120	150
Leukozyten in 0,5 Serum, 56° . . .	—	30 000	4 000	—	—	—	—	—	5 300	5 000
0,5 NaCl-Lösung .	80 000	∞	80 000	64 000	500 000	20 800	158 000	160 000	∞	100 000
0,5 Serum	7 000	30 000	2 100	14 000	45 000	15 600	158 000	74 000	5 200	1 880
0,5 Serum, 56° .	—	600 000	80 000	—	—	—	—	—	600 000	100 000
0,5 Vollexsudat .	—	—	—	—	12 000	—	—	—	—	steril
0,5 Exsudatflüssigkeit . .	—	—	—	—	15 000	—	—	—	—	400
Einsaat	4 000	20 000	1 000	1 400	50 000	13 200	8 000	16 000	648	1 240

Meist ist jedoch auch in der Kochsalzaufschwemmung eine deutliche Leukozytenwirkung vorhanden. Für die stärkere Wirkung der Leukozyten im Serum kann in Betracht kommen, daſs das Serum durch seinen Opsoningehalt die Phagozytose erhöht und damit einen innigeren Kontakt der Bakterien mit den Leukozytenstoffen bewirkt, und dann weiter der Umstand, daſs in der Kochsalzlösung die Vermehrung der Keime stets eine intensivere ist, wodurch dann diejenigen Keime, welche der Abtötung der Leukozyten entgehen, zu einer gröſseren Individuenzahl auswachsen, als die gleichgroſse Menge im Serum. Diese beiden Umstände dürften die schwächere Wirkung der Leukozyten in der Kochsalzlösung bedingen, so daſs wir nicht glauben, daſs hiebei eine komplexe Wirkung, wie sie bei Subtilis (Weil) und bei Milzbrand (Tsuda) beschrieben wurde, eine Rolle spielt. Dagegen sprechen auch jene Versuche, in welchen die Leukozyten in Kochsalzlösung eine starke Keimabtötung entfalten. Diese Experimente wurden, wie aus den Versuchsprotokollen ersichtlich ist, mit zwei Stämmen ausgeführt, welche sich im Prinzip ganz gleich verhalten. Doch tritt bei dem Stamme C eine Differenz dadurch hervor, daſs in inaktiviertem Serum die Leukozyten meist nicht gewirkt haben. Dies scheint darauf zurückzuführen zu sein, daſs im Gegensatz zum aktiven Serum sich die Staphylokokken im inaktivierten Serum sehr stark vermehren, während beim Stamm O oft ein Unterschied zwischen Vermehrungsfähigkeit im aktiven und inaktiven Serum nicht hervortritt. Die Zerstörung der Opsonine scheint uns deshalb kein ausreichender Grund zu sein, weil Staphylokokkusstamm O auch im inaktivierten Serum von den Leukozyten abgetötet wird, obzwar, wie man sich im Reagenzglasversuche überzeugen kann, im inaktivierten Serum die Opsonine zerstört sind. Wie weiters aus den Versuchstabellen hervorgeht, sind auch die Leukozyten in der Bouillonaufschwemmung zur Keimtötung befähigt.

Da es der Hauptzweck unserer Untersuchung war, die Wirkung der lebenden Leukozyten im Reagenzglase zu untersuchen, um eventuell einen Anhaltspunkt ihrer Wirkung im Tierkörper zu gewinnen, haben wir kein besonderes Gewicht

darauf gelegt, die Bakterizidie der extrahierten Leukozytenstoffe zu prüfen. Die Leukozyten-Gefrierextrakte wirken meist schwächer als die lebenden Leukozyten, zeigten aber im Prinzip dasselbe Verhalten, indem sich Leukozyten-Serumextrakte auch hier als am stärksten keimtötend erwiesen. Wo Vollexsudat zur Verfügung stand, wurde es ebenfalls untersucht und da zeigte sich, dafs dasselbe meist die stärkste Bakterizidie aufwies, selbst dann, wenn es der Inaktivierungstemperatur ausgesetzt war. Auch in den Versuchen von Schattenfroh zeigte sich eine beträchtliche Keimtötung des Vollexsudates, während nach seiner Angabe die isolierten Leukozyten sich nicht geeignet erwiesen, Staphylokokken abzutöten.

Für Schattenfrohs und Neufelds Mifserfolge kann der Grund in zwei Umständen gesucht werden, entweder darin, dafs sich ihre Technik nicht geeignet erwies, oder dafs die von ihnen benutzten Staphylokokkenstämme gegenüber Leukozyten sich resistenter verhielten, als die unseren; denn bekanntlich beziehen sich derartige Versuche immer nur auf die verwendeten Bakterienstämme, sie können eine allgemeine Gültigkeit nicht beanspruchen.

Nach diesen Reagenzglasversuchen haben wir es für notwendig erachtet, einige Tierversuche anzuschliefsen, um darüber Aufschlufs zu erlangen, ob in diesem Falle die Ermittelungen im Reagenzglase auch für den Tierkörper Gültigkeit haben. Trifft dies zu, so dürfte die Virulenz dieser Stämme für das Meerschweinchen keine sehr hohe sein, da ja die Leukozyten dieses Tieres den Staphylokokkus erfolgreich angreifen. Daraufhin angestellte Versuche ergaben, dafs eine starke Öse der Agarkultur für Meerschweinchen von etwa 300 g die tödliche Dosis nicht darstellte und Bauchhöhlenentnahme zeigten, dafs die Leukozytenwirkung die Ursache für die Entfernung der Keime aus der Bauchhöhle ergab.

Tierversuch I.

Um zunächst die Widerstandsfähigkeit des Meerschweinchens gegenüber den zu obigen Reagenzglasversuchen verwendeten Staphylokokkenstamm (aus Karbunkel) ungefähr zu bestimmen, haben wir eine starke Öse frischer

Agarkultur einem Meerschweinchen von 310 g intraperitoneal injiziert und mittels mehrmaliger Kapillarentnahmen der Bauchhöhlenflüssigkeit genau den Verlauf der Infektion beobachtet. 1 Stunde nach der Injektion waren schon polynukleäre Leukozyten hier und da sichtbar. Nach $1^1/_2$ Stunden war die Verminderung der Kokken deutlich und ziemlich starke Phagozytose bemerkbar. Nach 2, $2^1/_2$, 3 und $3^1/_2$ Stunden vermehrten sich die Leukozyten allmählich und die Phagozytose wurde immer stärker, während anderseits die Zahl der freien Kokken sich stark verminderte. Nach 4—5 Stunden erreichte die Phagozytose den Höhepunkt und keine freien Kokken waren nun mehr zu sehen. Später wurde die Zahl der phagozytierten Kokken wieder allmählich weniger und freie Kokken traten nicht mehr auf. Nach 15—20 Stunden war das Exsudat äufserst dick und eitrig, enthielt lauter polynukleäre Leukozyten mit nur ganz vereinzelten phagozytierten Kokken. Das Tier zeigte keine Krankheitserscheinung und überstand die Infektion vollkommen.

Dieser Versuch weist darauf hin, dafs das Meerschweinchen gegenüber diesem Staphylokokkenstamm ziemlich widerstandsfähig ist, was hauptsächlich auf die Wirkung der Leukozyten zurückzuführen ist. Dafs die Leukozytenwirkung im Tierkörper deutlicher und stärker als bei den Reagenzglasversuchen hervortritt, läfst sich sehr leicht damit erklären, dafs im Tiere die Leukozyten zahlreicher und fortwährend frisch in die Bauchhöhle einströmen und immer mit voller und erneuter Kraft ihre keimtötende Wirkung auf die Mikroorganismen ausüben können, während im Reagenzglase die Wirkung der Leukozyten beschränkt bleibt.

Unsere Reagenzglasversuche, sowie der oben kurz erwähnte Tierversuch haben das unzweifelhafte Resultat ergeben, dafs die Meerschweinchenleukozyten allein imstande sind, den Staphylokokkus abzutöten. Es war von Interesse, zu prüfen, ob im Tierkörper eine Ausschaltung der Säfte die Widerstandsfähigkeit schwächt, und eine Unterdrückung der Leukozyten die Resistenz des Meerschweinchens aufhebt. Wir besitzen im Cholerapräzipitate ein Mittel, welches durch Komplementbildung die Säfte inaktiviert, und im Choleraextrakte ein solches, welches überdies noch den Zuflufs der Leukozyten in die Bauchhöhle behindert. Bei der Infektion des Meerschweinchens mit Heubazillen konnten beide Mittel von Weil mit Erfolg angewendet werden. Wir geben gleich die diesbezüglichen Untersuchungen wieder.

Tierversuch II.

Meerschweinchen 1. 245 g. Intraperitoneale Injektion von 2 ccm Choleraextrakt + Choleraimmunserum 0,15 ccm, 1/2 Stunde später 2/3 Öse Agarkultur in 2,0 ccm NaCl-Lösung.

Sofort massenhafte Kokken.

Nach 1 Stunde sehr viele freie Kokken, spärliche Leukozyten mit Phagozytose.

Nach 2 Stunden Kokken stark vermehrt, spärliche Leukozyten mit Phagozytose.

Nach 5 Stunden Kokken wieder vermehrt, Leukozyten ungefähr gleichviel wie bei voriger Entnahme. Das Tier schwer krank.

Am nächsten Morgen (ca. 20 Stunden nach der Injektion von Kokken) das Tier tot gefunden. Exsudat dünnflüssig, serös; massenhaft freie Kokken, ganz vereinzelte mononukleäre Leukozyten, fast keine Phagozytose.

Meerschweinchen 2. 270 g. Intraperitoneale Injektion von Präzipitate (je 10 ccm aktives Rinderserum und Choleraextrakt) in 2 ccm NaCl-Lösung, 1/2 Stunde später 2/3 Öse Agarkultur in 2 ccm NaCl-Lösung.

Sofort massenhaft Kokken.

Nach 1 Stunde ziemlich viele freie Kokken, spärliche Leukozyten mit Phagozytose.

Nach 2 Stunden wenige freie Kokken, ziemlich viele Leukozyten, deutliche Phagozytose.

Nach 5 Stunden Kokken deutlich vermindert, meist phagozytiert, nur vereinzelt frei; Leukozyten reichlich. Das Tier ganz munter.

Am nächsten Morgen: Das Tier am Leben. Exsudat ziemlich dick, reichliche Mikro- und Makrophagen mit Phagozytose, fast keine freien Kokken.

Meerschweinchen 3. 240 g. Intraperitoneale Injektion von 2 ccm NaCl-Lösung, 1/2 Stunde später 2/3 Öse Agarkultur in 2 ccm NaCl-Lösung.

Sofort massenhafte Kokken.

Nach 1 Stunde ganz spärliche freie Kokken, spärliche Leukozyten mit Phagozytose.

Nach 2 Stunden Leukozyten sehr viel, Phagozytose sehr deutlich, nur vereinzelte freie Kokken.

Nach 5 Stunden Exsudat dick, stark getrübt, fast keine freien Kokken, Leukozyten reichlich. Phagozytose sehr ausgeprägt. Das Tier ganz munter.

Am nächsten Morgen vollkommen munter, Exsudat dick, eitrig, lauter Eiterkörperchen, keine freien Kokken, hier und da spärliche Phagozytose.

Tierversuch III.

Meerschweinchen 4. 310 g. Intraperitoneale Injektion von 1 Öse Agarkultur + 2 ccm Choleraextrakt + Choleraimmunserum 0,1 ccm.

Sofort massenhafte Kokken.

Nach 1/2 Stunde ziemlich viele Kokken, keine Leukozyten.

---

1) Die sämtlichen Tierversuche mit Staphylokokken wurden mit dem Stamm C ausgeführt.

Nach 1 Stunde Kokken vermehrt, keine Leukozyten.

Nach 2 Stunden Kokken wieder vermehrt, hie und da spärliche Leukozyten, nur vereinzelte Phagozytose.

Am nächsten Morgen (ca. 15 Stunden nach der Injektion) wurde das Tier tot gefunden; Exsudat ca. 2 ccm, dünnflüssig, massenhafte Kokken, spärliche Leukozyten mit Phagozytose. Nirgends Eiterbelag auf inneren Organen.

Meerschweinchen 5. 320 g. Intraperitoneale Injektion von 1 Öse Agarkultur + Präzipitat (je 10 ccm aktives Rinderserum und Choleraextrakt) in 2 ccm Na Cl-Lösung.

Sofort massenhafte Kokken.

Nach $^1/_2$ Stunde Kokken deutlich vermindert.

Nach 1 Stunde nur spärliche freie Kokken, hier und da Leukozyten mit Phagozytose.

Nach 2 Stunden vereinzelte freie Kokken, ziemlich viele Leukozyten, deutliche Phagozytose.

Am nächsten Morgen lebte das Tier ganz munter, Exsudat dick eitrig, reichliche Eiterkörperchen, keine freien, nur spärliche phagozytierte Kokken.

Meerschweinchen 6. 300 g. Intraperitoneale Injektion von 1 Öse Agarkultur in 2 ccm Na Cl-Lösung.

Sofort reichliche Kokken.

Nach $^1/_2$ Stunde Kokken deutlich vermindert.

Nach 1 Stunde hier und da Leukozyten, nur spärliche freie Kokken, Phagozytose deutlich.

Nach 2 Stunden nur vereinzelte freie Kokken, Leukozyten ziemlich reichlich, Phagozytose sehr deutlich.

Am nächsten Morgen lebte das Tier vollkommen munter. Exsudat äuſserst dick, massenhafte Eiterkörperchen, nur vereinzelte Phagozytose.

Tierversuch IV.

Meerschweinchen 7. 300 g. Intraperitoneale Injektion von 1 Öse Agarkultur + 2 ccm Choleraextrakt + 0,1 ccm Choleraimmunserum.

Sofort massenhafte Kokken.

Nach 1 Stunde Kokken ebensoviel, vereinzelte Leukozyten.

Nach 2 Stunden Kokken deutlich vermehrt, spärliche Leukozyten mit Phagozytose.

Nach 5 Stunden äuſserst zahlreiche freie Kokken, wenige Leukozyten mit Phagozytose. Das Tier schwer krank.

Nach 7 Stunden. Das Tier sehr elend. Bauchhöhlenentnahme, ungefähr gleich wie bei voriger Entnahme.

Nach 9 Stunden tot. Exsudat ca. 3 ccm, leicht blutig, massenhafte freie Kokken und ziemlich viele Leukozyten mit Phagozytose. Im Herz-, Nieren- und Milzblute mikroskopisch keine Kokken; im Leberblute wenige Kokken. Aus 1 Öse Herzblut auf dem Schiefagar ca. 40 Kolonien gewachsen.

Meerschweinchen 8. 310 g. Intraperitoneale Injektion von 1 Öse Agarkultur + Präzipitat (je 16 ccm Choleraextrakt und zehnfach verdünntes Choleraimmunserum) in 2 ccm Na Cl-Lösung.

Sofort massenhafte Kokken.

Nach 1 Stunde ebensoviele Kokken, keine Leukozyten.

Nach 2 Stunden Kokken deutlich vermehrt, hier und da Leukozyten mit Phagozytose.

Nach 5 Stunden freie Kokken ungefähr gleichviel wie bei voriger Entnahme, spärliche Leukozyten mit Phagozytose. Das Tier schwer krank.

Nach 7 Stunden tot. Exsudat ca. 3,5 ccm, serös dünnflüssig. Unmassen von freien Kokken, spärliche Leukozyten mit Phagozytose. Im Herz- und Nierenblute mikroskopisch keine Kokken, im Leber- und Milzblute ziemlich viele Kokken. Aus 1 Öse Herzblut auf der Schiefagar ca. 70 Kolonien gewachsen.

Meerschweinchen 9. 300 g. Intraperitoneale Injektion von 1 Öse Agarkultur in 2 ccm Na Cl-Lösung.

Sofort massenhafte Kokken.

Nach 1 Stunde Kokken ungefähr gleichviel wie bei voriger Entnahme, vereinzelte Leukozyten mit Phagozytose.

Nach 2 Stunden Kokken vermindert, ziemlich viele Leukozyten mit deutlicher Phagozytose.

Nach 5 Stunden massenhafte Leukozyten, ausgeprägte Phagozytose, nur ganz spärliche freie Kokken.

Nach 20 Stunden Exsudat äufserst dick, getrübt, lauter Eiterkörperchen, vereinzelte phagozytierte Kokken, keine freien Kokken. Das Tier lebt ganz munter.

Tierversuch V.

Meerschweinchen 10. 280 g. Intraperitoneale Injektion von 2 ccm Choleraextrakt + 0,1 ccm Choleraimmunserum. Nach $^1/_2$ Stunde $^2/_3$ Öse Agarkultur in 2 ccm Na Cl-Lösung.

Sofort massenhafte Kokken.

Nach 1 Stunde ebensoviele freie Kokken, keine Leukozyten.

Nach 3 Stunden Kokken stark vermehrt, keine Leukozyten. Das Tier hat leichte peritonitische Erscheinung.

Nach 4 Stunden. Der Befund ungefähr gleich wie bei voriger Entnahme.

Nach 5 Stunden Unmassen von freien Kokken, vereinzelte Leukozyten mit Phagozytose. Das Tier schwer krank.

Nach 7 Stunden tot. Exsudat dünn, leicht blutig tingiert, ungeheuer viele freie Kokken, nur vereinzelte Leukozyten mit Phagozytose.

Meerschweinchen 11. 270 g. Intraperitoneale Injektion vom Präzipitate (je 10 ccm aktives Rinderserum und 10 fach verdünnter Choleraextrakt) in 2 ccm Na Cl-Lösung. Nach $^1/_2$ Stunde $^2/_3$ Öse Agarkultur in 2 ccm Na Cl-Lösung.

Sofort massenhafte Kokken.

Nach 1 Stunde sehr viele freie Kokken, keine Leukozyten.

Nach 3 Stunden ebenso ziemlich viele freie Kokken, hier und da spärliche Leukozyten. Das Tier hat leichte peritonitische Erscheinung.

Nach 4 Stunden der Befund ungefähr gleich wie bei letzter Entnahme.

Nach 5 Stunden spärliche freie Kokken, ganz wenige Leukozyten mit Phagozytose.

Nach 7 Stunden schwer krank. Kokken nicht bedeutend vermehrt.

Am nächsten Morgen (nach 19 Stunden) das Tier tot gefunden. Ziemlich viele freie Kokken, spärliche Leukozyten mit Phagozytose im Exsudate. Am Netz massenhafte freie Kokken.

Meerschweinchen 12. 250 g. Intraperitoneale Injektion von 2 ccm NaCl-Lösung. Nach $^1/_2$ Stunde $^2/_3$ Öse Agarkultur in 2 ccm NaCl-Lösung.

Sofort massenhafte Kokken.

Nach 1 Stunde wenige freie Kokken mit spärlichen Leukozyten.

Nach 3 Stunden massenhafte Leukozyten mit Phagozytose, fast keine freien Kokken.

Nach 4 Stunden ungefähr gleich wie bei voriger Entnahme.

Nach 5 Stunden reichliche Leukozyten mit Phagozytose (phagozytierte Kokken etwas weniger wie bei voriger Entnahme); nur vereinzelte freie Kokken.

Nach 7 Stunden das Tier ganz munter.

Am nächsten Morgen Exsudat äußerst dick, eitrig. Massenhafte Leukozyten mit spärlicher Phagozytose, keine freien Kokken. Das Tier vollkommen munter.

Diese Versuche zeigen, daſs das Präzipitat nur manchmal befähigt ist, eine Infektion zu erzwingen, ein Umstand, der darin seine Erklärung findet, daſs den Reagenzglasversuchen gemäſs eben die Leukozyten allein den Staphylokokkus abtöten. Da das Präzipitat infolge seiner Ungiftigkeit die Leukozyten nicht fernhält, so werden sich dieselben öfters auch ohne der Mithilfe des Serums (Opsonine) des Staphylokokkus bemächtigen. Konstant kommt jedoch eine Infektion in jenen Versuchen zustande, in welchen der giftige Choleraextrakt angewendet wurde. Da derselbe, wovon man sich durch Entnahme vom Bauchhöhlenexsudate überzeugen kann, die Leukozyten fernhält, so können sich die Staphylokokken unbehindert vermehren. Diese Infektionsmöglichkeit ist nur durch das Fernhalten der Leukozyten zu erklären, denn wir konnten uns in anderen Experimenten davon überzeugen, daſs die Giftigkeit allein nicht eine Vermehrungsfähigkeit zuläſst, denn derartig vergiftete Tiere sterben dann trotz Infektion mit steriler Bauchhöhle. In unseren sämtlichen

Tierversuchen aber ist es zu einer von Beginnen der Infektion einsetzenden bis zum Tode des Tieres andauernden Vermehrung der Kokken gekommen. Es haben also unsere Tierversuche eine vollständige Übereinstimmung mit den Experimenten im Reagenzglase ergeben, indem hier wie dort sich die Leukozyten als die Ursache davon erwiesen, dafs das Meerschweinchen, gegenüber dem Staphylokokkus widerstandsfähig ist.

Dieselben Versuche haben wir auch mit einem aus Scharlach gezüchteten Streptokokkus angestellt und zwar haben wir genau dieselbe Versuchstechnik eingehalten, die nur dadurch modifiziert werden mufste, dafs jedem Agarröhrchen 1 ccm inaktiviertes Rinderserum zugesetzt wurde, weil sonst die Streptokokken auf der Platte nicht zu Kolonien auswachsen.

Tabelle III.

Bakterizide Versuche mit Streptokokkus (aus Scharlach gezüchtet).

	Versuch									
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Leukozyten in 0,5 Na Cl-Lösg.	700	—	—	1 000	1 600	—	—	—	—	—
Leukozyten in 0,5 Bouillon .	1 000	1 080	40 000	20 000	40 000	—	—	—	—	—
Leukozyten in 0,5 Serum . .	900	230	8 000	300	800	600	300	6 000	310	1 400
Leukozyten in 0,5 Serum 56°	7 800	1 112	60 000	20 000	100 000	7 000	3 000	27 000	720	8 400
0,5 Na Cl-Lösg.	600 000	—	—	200 000	∞	—	—	—	—	—
0,5 Bouillon .	600 000	24 000	120 000	40 000	30 000	40 000	100 000	23 200	8 800	—
0,5 Serum . .	200 000	200 000	100 000	160 000	60 000	13 800	6 000	14 000	4 400	10 000
0,5 Serum 56°	250 000	400 000	200 000	200 000	80 000	80 000	8 000	—	13 200	13 600
0,5 Vollexsudat	20 000	10 000	—	—	steril	—	—	—	—	—
0,5 Vollexsudat 56°	50 000	34 000	—	—	—	—	—	—	—	—
0,5 Exsudatflüssigkeit . . .	∞	90 000	40 000	—	—	—	—	—	960	—
0,5 Exsudatflüssigkeit 56° .	∞	25 000	20 000	—	—	—	—	—	—	—
Einsaat . . .	5 800	5 100	6 000	4 400	4 800	12 800	7 000	13 200	6 000	16 400

Diesen Versuchstabellen läſst sich zunächst entnehmen, daſs die Leukozyten in Kochsalzlösung eine wenn auch schwächere, so doch deutliche bakterizide Wirkung aufweisen. In Bouillon sind die Leukozyten oft wirkungslos. Die stärkste Wirkung entfalten sie im aktiven Serum. Dieselbe wird aber meistens aufgehoben, wenn das Serum inaktiviert wird. Daſs die Zerstörung der Opsonine hierbei eine Rolle spielt, scheint uns sehr unwahrscheinlich, da, wie man sich im mikroskopischen Bild überzeugen kann, auch in der Kochsalzlösung trotz Vorhandensein der Bakterizidie der Leukozyten eine Phagozytose nicht zustande kommt. Pettersson hat ebenfalls Meerschweinchenleukozyten auf ihre keimtötende Fähigkeit gegenüber Streptococcus pyogenes untersucht, doch im Gegensatz zu unseren Untersuchungen mit lebenden Leukozyten nicht gearbeitet. Seine mit Leukozytenextrakten angestellten Untersuchungen ergaben das Resultat, daſs in den Extrakten anfänglich eine nicht unerhebliche Vermehrung eintritt, welche nach längerer Zeit (18 bis 30 Std.) von einer Abtötung gefolgt ist.

Diese Beobachtung deckt sich vollkommen mit den früheren Experimenten von Schattenfroh, welcher in Leukozytenkochsalzextrakten Choleravibrionen sich anfänglich vermehren sah, welche aber schlieſslich nach längerer Zeit darin zugrunde gingen. Ob diese Verhältnisse auf eine Bakterizidie der Leukozytenstoffe zurückzuführen sind, oder ob dabei andere Umstände, welche Pettersson erörtert, eine Rolle spielen, können wir nicht entscheiden. Wir glauben aber, entgegen der Anschauung Petterssons, nicht, daſs eine derartige nach langer Zeit einsetzende Keimtötung bei der Infektion normaler Tiere irgendwelche wesentliche Bedeutung besitzt. Die Versuche Weils bei Hühnercholera, welche Pettersson zur Bekräftigung seiner Anschauung anführt, können dieselbe nicht stützen, da sie gerade das Gegenteil zeigen. Bei dem Phänomene der nachträglichen Vermehrung, welches bei hühnercholera- und schweineseucheinfizierten Meerschweinchen beobachtet wurde, handelt es sich nicht, wie in den Reagenzglasversuchen Petterssons, um eine anfängliche, sondern, wie schon der Name sagt, um eine nach

längerer Zeit einsetzende, trotz Anwesenheit von massenhaften Leukozyten statthabende Vermehrung. Dasselbe scheint wohl auch in den von Pettersson zitierten Versuchen Sobernheims der Fall zu sein. Bei unseren mit lebenden Leukozyten angesetzten Versuchen tritt jedoch die Keimtötung in der gewöhnlichen Zeit auf.

Daſs die von uns erwiesene Leukozytenbakterizidie in der Eprouvette auch für den Tierkörper bedeutungsvoll ist, geht daraus hervor, daſs Meerschweinchen gegenüber diesem Stamm eine starke Resistenz aufweisen, welche, wie man auch im Tierkörper sehen kann, in der Leukozytenbakterizidie begründet ist.

Tierversuch VI.

Einem Meerschweinchen von 250 g wurde 2,5 ccm von ca. 20 Stunden alter Bouillonkultur des Streptokokkus intraperitoneal injiziert. Die sofortige Bauchhöhlenentnahme zeigte massenhaft Kokken, keine Leukozyten. $^1/_2$ Stunde später fand man schon hier und da vereinzelte polynukleäre Leukozyten und eine geringe Anzahl freie Kokken. Nach 1 Stunde verminderten sich die freien Kokken, dagegen war die Zahl der Leukozyten etwas vermehrt und spärliche Phagozytose war sichtbar. Nach 2 Stunden waren ziemlich reichliche Leukozyten mit deutlicher Phagozytose aufzufinden; die Zahl der freien Kokken wurde sehr spärlich. Nach 3$^1/_2$ Stunden setzte die Vermehrung der Leukozyten ein, die meist mit Kokken voll gefüllt sind, so daſs fast keine freien Kokken mehr zu finden waren. Nach 5 Stunden war der Befund ungefähr gleich wie bei voriger Entnahme. Nach 7 Stunden waren massenhafte Leukozyten mit äuſserst starker Phagozytose bemerkbar. Das Tier zeigte von Anfang an bis dahin keine Krankheitserscheinung und blieb vollständig munter. Am nächsten Morgen (nach 20 Stunden) war das Exsudat dick, eitrig und schwer zu entnehmen, enthielt Unmassen von Leukozyten und nur vereinzelte phagozytierte Kokken. Das Tier blieb weiter am Leben.

Der gleiche Versuch wurde wiederholt unternommen und ebenfalls 2,5 ccm von frischer Bouillonkultur desselben Stammes angewandt. Das Resultat stimmte im groſsen und ganzen mit dem obengeschilderten überein.

Die beiden bisher untersuchten Bakterienarten waren solche, gegenüber welchen das Serum bakterizid unwirksam war und es war schon von vornherein sehr wahrscheinlich, daſs im Falle des Vorhandenseins einer Resistenz des Meerschweinchens gegen dieselben sich vermittelst der von uns angewandten Versuchstechnik ein keimtötender Effekt der Leukozyten nachweisen lassen muſste. Es schien uns weiter von Wichtigkeit, auch einen Mikroorganismus

zu untersuchen, welchen das Serum abtötete. Hiefür schien uns der Schweinepestbazillus geeignet und zwar aus zwei Gründen: Erstens ist das Meerschweinchen gegen unseren Stamm (0,005 ccm von Bouillonkultur tötet das Meerschweinchen 250 g binnen 2 Tagen) sehr wenig widerstandsfähig, trotz starker Serumbakterizidie. Es war daher nicht uninteressant, die Leukozytenwirkung gegenüber diesem Stamm zu prüfen. Zweitens wollten wir der Frage näher treten, welche Bedeutung den Opsoninen für die Leukozytenbakterizidie zukommt, da wir ein Schweinepestimmunserum (von einem Kaninchen, welches mit auf 60°C erhitzten Schweinepestbazillen mehrmals intravenös behandelt war) besafsen, welches in aufserordentlich starker Weise phagozytosebegünstigend wirkte und zwar derart, dafs nach einer Stunde fast sämtliche Bakterien innerhalb der Leukozyten sich befanden, während in der Leukozytenkochsalzaufschwemmung nur vereinzelte Phagozytose zu konstatieren war. Da wir in unseren früheren Untersuchungen uns von einer unterstützenden Wirkung der phagozytosebefördernden Stoffe für die Leukozytenbakterizidie, wie bereits erwähnt, nicht recht überzeugen konnten, so schien uns der Schweinepestbazillus geeignet, diese Frage zu entscheiden. Die Versuche wurden wieder mit unserer gewöhnlichen Technik ausgeführt. Wir geben hier in zwei Tabellen (S. 303 u. 304) sämtliche von uns angestellte Experimente wieder.

In der einen Tabelle sind diejenigen Versuche angeführt, wo die Leukozyten schwach oder gar nicht gewirkt haben, in der anderen jene, wo es zu einer Leukozytenbakterizidie gekommen ist. Daraus geht hervor, dafs im Gegensatz zu den beiden vorangehenden Mikroorganismen die Leukozytenbakterizidie gegenüber dem Schweinepestbazillus nur sehr unregelmäfsig auftritt, indem mehr als die Hälfte der Versuche ein vollkommen negatives Resultat ergeben haben. Das beweist, dafs die Leukozyten nur in geringem Masse befähigt sind, den Schweinepestbazillus abzutöten, was in gewisser Hinsicht mit seiner Virulenz im Tierkörper in Zusammenhang gebracht werden kann. Diese Versuche beweisen weiter, dafs die Phagozytose allein in keiner Weise eine Keimverminderung bedingt, denn wie bereits erwähnt,

Tabelle IV.

Bakterizide Versuche mit Schweinepestbazillus.

	Versuch								
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Leukozyten in 0,45 NaCl + I.-S. 0,05	—	—	—	3 400	1 872	—	—	—	—
Leukozyten in 0,4 NaCl + I.-S. 0,01	1 000	—	—	—	—	—	700	1 000	—
Leukozyten in 0,45 NaCl + I.-S. 0,005	—	700	—	—	—	—	—	—	—
Leukozyten in 0,5 NaCl + θ	6 000	150	30	9 600	424	—	150	6 000	4 200
Leukozyten in 0,45 Bouillon + I.-S. 0,05	—	—	—	12 000	—	820	-	—	—
Leukozyten in 0,5 Bouillon + θ	—	—	—	2 500	1 250	800	—	—	2 300
Leukozyten in 0,5 Serum	—	40	—	—	—	—	40	—	—
Leukozyten in 0,5 Serum 56°	—	2 000	350	—	—	—	∞	—	—
0,45 NaCl + I.-S. 0,05	—	—	—	200 000	300 000	—	—	—	—
0,4 NaCl + I.-S. 0,01	∞	—	—	—	—	—	∞	∞	—
0,45 NaCl + I.-S. 0,005	—	600 000	—	—	—	—	—	—	—
0,5 NaCl + θ	∞	∞ ∞	80 000	800 000	∞	—	∞ ∞ ∞	∞	∞
0,45 Bouillon + I.-S. 0,05	—	—	—	∞	—	∞	—	—	—
0,5 Bouillon + θ	—	∞ ∞ ∞	400 000	∞	∞ ∞	∞ ∞	—	—	∞
0,5 Serum	steril	370	160	35	steril	steril	1 000	steril	1 900
0,5 Serum 56°	—	∞ ∞	40 000	∞	∞	∞	∞	—	∞
0,5 Exsudatflüssigkeit	—	steril	—	—	—	steril	steril	—	—
NaCl + I.-S. (ohne Einsaat)	steril	wenige Keime	—	steril	steril	steril	wenige Keime	steril	steril
Einsaat	6 000	10 000	2 000	10 400	11 600	9 000	10 000	6 000	8 500

Tabelle V.

Bakterizide Versuche mit Schweinepestbazillus.

	Versuche												
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	IX	X	XI	XII
Leukozyt. in 0,4 Na Cl + I.-S. 0,1	200 000	30 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Leukozyt. in 0,4 Na Cl + I.-S. 0,01	400 000	40 000	400 000	—	—	50 000	41 400	36 000	—	60 000	30 000	—	—
Leukozyt. in 0,45 Na Cl + I.-S. 0,005	300 000	32 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Leukozyt. in 0,5 Na Cl + θ	∞	200 000	800 000	8 000	900 000	—	37 200	21 000	35 000	52 200	15 600	300 000	400 000
Leukoz. in 0,5 Bouillon	—	—	—	—	—	—	—	—	150 000	—	—	—	—
Leukozyt. in 0,5 Serum	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Leukoz. in 0,5 Ser. 56 ₀	—	—	—	—	—	—	—	—	—	21 860	7 900	—	—
0,4 Na Cl + I.-S. 0,1	200 000	70 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,4 Na Cl + I.-S. 0,01	400 000	90 000	100 000	—	—	∞	400 000	500 000	—	∞	∞	—	—
0,45 Na Cl + I.-S. 0,005	500 000	100 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,5 Na Cl + θ	50 000	14 000	24 000	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
0,5 Bouillon	—	—	—	—	—	—	∞ ∞ ∞	∞ ∞	∞	—	—	—	—
0,5 Serum	steril	steril	14 000	9 000	800	steril	steril	steril	42 000	steril	steril	6 900	steril
0,5 Serum 56 °	—	—	—	—	—	—	∞	∞	∞	300 000	600 000	800 000	∞
0,5 Vollexsudat	—	—	steril	—	—	—	—	—	—	200 000	100	4 800	steril
0,5 Vollexsudat 56 °	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0,5 Exsudatflüssigkeit	8 000	80 000	—	—	—	—	—	—	—	steril	steril	—	—
0,5 Exsudatflüssig. 56°	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Na Cl + I.-S. (ohn. Eins.)	steril	steril	vereinz. K.	—	—	steril	steril	steril	—	steril	steril	—	—
Einsaat	8 000	2 720	14 000	6 000	8 000	3 000	2 500	6 800	7 000	14 800	8 000	1 136	8 100

wirkte unser Schweinepestserum im höchsten Grade bakteriotrop. Es ist also in sämtlichen Versuchen vonseiten der massenhaften Leukozyten unter dem Einfluſs des Immunserums zu stärkster Phagozytose gekommen und trotzdem ist eine Verminderung der Keime in einer groſsen Anzahl der Versuche nicht eingetreten. Daraus geht mit Sicherheit hervor, daſs, wenn die Leukozyten nicht die Macht besitzen, vermittelst ihrer Stoffe Keime abzutöten, die Phagozytose allein eine Abnahme von Bakterien nicht vortäuschen kann.[1]) Dieser Umstand bezieht sich auch auf unsere Versuche mit Staphylo- und Streptokokken, so daſs wir damit dem Einwand begegnen können, daſs es sich in diesen Versuchen nicht um eine Keimtötung, sondern um Phagozytose gehandelt habe. Wenn nämlich die Leukozyten nicht über Stoffe verfügen, welche die Bakterien abtöten, so vermehren sich die Keime offenbar innerhalb der Leukozyten ebenso wie auſserhalb.

Bezüglich der Bedeutung der Phagozytose für die Vernichtung der Keime können wir aus unseren positiven Versuchen mit Schweinepestbazillus einige Schlüsse ziehen. Es ist ein Unterschied in der Stärke der Bakterizidie nicht zu konstantieren, ob Immunserum zugesetzt ist oder nicht; zwar tritt in einigen Fällen eine geringe Verbesserung der Leukozytenwirkung durch Serumzusatz ein, ebensooft ist gerade das Gegenteil der Fall. Durch diese Tatsache gelangen wir auf dem entgegengesetzten Wege zu dem Schlusse, daſs die Phagozytosebegünstigung für die Bakterizidie keine wesentliche Bedeutung besitzt. Dieser Umstand scheint zwar unverständlich, denn man sollte doch denken, daſs gerade in den Fällen, wo die Leukozyten Bakterizidie entfalten, die Phagozytose den Kontakt mit den Bakterien besser herstellt und dadurch die Wirkung erhöht; wenn aber, wie in der Kochsalzlösung die Phagozytose nur spärlich ist, so sollte eigentlich eine Bakterizidie nicht zustande kommen, da ja die nicht innerhalb der Leukozyten sich befindlichen Keime in der Kochsalzlösung, wie die Versuche zeigen, eine starke Vermehrung

1) **Anm. b. d. Korrektur: Die inzwischen veröffentlichte Arbeit von Werbitzky (dieses Archiv, Bd. 70) kommt zu demselben Ergebnisse.**

erfahren. Eine Erklärung für dieses Verhalten läſst sich vielleicht in folgendem finden. Bei Schweinerotlauf (Weil) und bei Milzbrand (Tsuda) konnte der Nachweis erbracht werden, daſs es ohne Phagozytose zu einer Leukozytenbakterizidie kommen kann, indem die entsprechenden Bakterien vermöge ihrer Affinität zu den Leukozytenstoffen diese aus den selbst abgetöteten Leukozyten herausnehmen. Hier können diese Verhältnisse ähnlich liegen, so daſs dann der Umstand, daſs ohne wesentliche Phagozytose die Schweinepestbazillen abgetötet werden und zwar in demselben Maſse wie bei stärkster Phagozytose, darin begründet sein könnte.

Zusammenfassung.

1. Die Meerschweinchenleukozyten besitzen für den Staphilococcus pyogenes bakterizide Fähigkeiten. Die Abtötung durch die Leukozyten erfolgt am besten in dem bakterizid unwirksamen aktiven Serum, weniger gut in inaktivem Serum, Kochsalzlösung und Bouillon.
2. Diese im Reagenzglase nachgewiesene Leukozytenbakterizidie ist auch im Tierkörper vorhanden, und die Ursache der Widerstandsfähigkeit gegen diesen Stamm ist ausschlieſslich auf die Wirkung der Leukozyten zurückzuführen. Denn durch Ausschaltung der Leukozytenwirkung mit Choleraextrakt kann man leicht die natürliche Widerstandsfähigkeit brechen und eine Infektion erzielen.
3. Auch der Streptococcus pyogenes wird ungefähr in demselben Maſse und auf dieselbe Weise von den Leukozyten abgetötet wie der Staphylokokkus.
4. Die Resistenz des Meerschweinchens gegen diesen Stamm ist ebenfalls in der Leukozytenbakterizidie begründet.
5. Gegen Schweinepestbazillen sind die Meerschweinchenleukozyten viel weniger wirksam. Da jedoch das in diesen Versuchen angewendete Immunserum die Phago-

zytose in der stärksten Weise begünstigte, so geht daraus hervor, dafs ein bakterizider Effekt nicht durch Phagozytose bedingt sein mufs. In jenen Versuchen, wo die Leukozyten den Schweinepestbazillus abgetötet haben, hat der Immunserumzusatz die Bakterizidie nicht verstärkt, woraus hervorgeht, dafs die Opsonine für die Leukozytenbakterizidie nicht bedeutungsvoll sein können.

Literatur.

1. Baumgarten, Münch. med. Wochenschr., Nr. 28, 1908.
2. Derselbe, Deutsche path. Gesellschaft, Kiel 1908.
3. Neufeld, Die Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte 1908.
4. Pettersson, Zentralblatt f. Bakt. etc. Originale Bd. XLV, 1908.
5. Schattenfroh, Dieses Archiv, Bd. XXXI, 1897.
6. Sobernheim, zitiert nach Zentralblatt f. Bakt. etc. Originale Bd. XLV, 1908 von Pettersson.
7. Tsuda, Dieses Archiv, dieser Band.
8. Weil, Zentralbl. f. Bakt. etc. Originale Bd. XLIV, 1907.
9. Weil, Dieses Archiv, Bd. LIV, 1905.
10. Weil u. Toyosumi, Dieses Archiv, dieser Band.

Zusammenfassende Übersicht der vorangehenden Untersuchungen von Dr. E. Weil.

Die vorangehenden Untersuchungen über die bakterienzerstörenden Fähigkeiten der Leukozyten lassen folgende Typen der Leukozytenbakterizidie erkennen:

Typus I. Serum bakterizid unwirksam. Leukozyten wirken stark in allen Aufschwemmungsflüssigkeiten (in aktivem und inaktivem Serum, in Bouillon und Kochsalzlösung), hierher gehören manche Stämme von Proteus[1]) (Pettersson) Milzbrand beim Huhn, Schweinerotlauf beim Meerschweinchen. Die Mikroorganismen dieses Typus zeichnen sich durch ihre völlige Apathogenität sowie durch die Unmöglichkeit einer Virulenzsteigerung aus.

Typus II. Serum bakterizid unwirksam. Leukozyten wirken am besten in aktivem Serum als Aufschwemmungsflüssigkeit, weniger stark in inaktivem Serum, Kochsalzlösung und Bouillon, in welchen Flüssigkeiten ihre Wirkung auch manchmal versagt. Die Leukozytenbakterizidie ist im ganzen schwächer als bei Typus I. Hierher gehören die von uns untersuchten Staphylo- und Streptokokken.

Typus III. Serum bakterizid wirksam. Leukozyten wirken in Kochsalzlösung, meist fehlt jegliche Bakterizidie in den übrigen Aufschwemmungsflüssigkeiten. Hierher gehört Cholera und Schweinepest. Diese Mikroorganismen besitzen oft eine geringe Anfangsvirulenz, die sich aber durch Tierpassagen steigern läſst.

1) Wo nicht die Tierart speziell angegeben ist, ist immer das Meerschweinchen gemeint.

Typus IV. Weder das Serum noch die Leukozyten enthalten eine stärkere bakterizide Fähigkeit, wohl aber beide vereint. Es handelt sich um eine komplexe Leukozytenbakterizidie, welche durch die Leukozytenstoffe und dem leukotaktischen Serumimmunkörper zustande kommt. Hierher gehört der vom Verf. untersuchte Subtilistamm, manche Milzbrandstämme und vielleicht Schweinerotlauf bei der Ratte. Dieser Wirkungstypus scheint ziemlich selten zu sein.

Diese Einteilung in Typen soll jedoch nicht als ein starres System aufgefafst werden, in welches alle Stämme der oben untersuchten Arten eingereiht werden können. Dies wird wahrscheinlich nicht der Fall sein. Da wir ja wissen, wie verschieden sich die verschiedenen Bakterienstämme inbezug auf ihre Infektiosität verhalten, so wird auch ihr Verhalten den Leukozyten gegenüber ein verschiedenes sein. Man darf nicht erwarten, dafs z. B. alle Staphylokokkenstämme sich in Typus II einreihen lassen und noch weniger, dafs alle Milzbrand- und Subtilisstämme zu Typus IV gehören. Es wird vielmehr der Fall sein, dafs z. B. manche Staphylokokkenstämme zu Typus I andere wieder zu Typus III gehören usw. Es wird aber meistens gelingen, die verschiedenen Bakterienstämme der verschiedenen Arten in einen der beschriebenen Typen einzustellen. Dann wird es vielleicht auch möglich sein, daraus Schlüsse auf die Virulenz und Virulenzsteigerung zu ziehen, wie wir es versucht haben.

Beurteilung des Bienenhonigs und seiner Verfälschungen mittels biologischer Eiweifsdifferenzierung.

Von

Univ.-Prof. Dr. med. **Joseph Langer**
in Graz.

I.

Zur Chemie und Physiologie des Bienenhonigs.

Das Leben der Bienen bietet sehr viel des Interessanten und wohl jeder naturforschende Beruf stöfst, namentlich, wenn einem eifrigen Studium der Theorie eine praktische Betätigung als Imker folgt, auf eine Fülle noch ungelöster Rätsel.

Als imkernder Arzt habe ich des öftern zu mich interessierenden Fragen Stellung genommen; so teilte ich im Jahre 1902 auf der Versammlung der deutschen Naturforscher und Ärzte in Karlsbad meine Untersuchungsergebnisse über die Fermente des echten Bienenhonigs auszugsweise mit und wies gleichzeitig auf die Anwendbarkeit der Methode des biologischen Eiweifsnachweises zur Erkennung des echten Bienenhonigs hin.

Durch andere Arbeiten in Anspruch genommen war es mir in den folgenden Jahren immer nur während der Ferienzeit möglich, mich mit dieser angeschnittenen Frage zu beschäftigen; erst das letzte Jahr gestattete eingehendere Untersuchungen, deren Resultate ich hiermit der berufenen Öffentlichkeit übergebe.

Die Arbeitsbienen des wildlebenden wie des als Kulturtier vom Menschen gepflegten Bienenvolkes haben neben andern

Funktionen vor allem die Aufgabe, die Nährmaterialien für den Bien, d. i. die Gesamtheit des Bienenvolkes — Arbeitsbienen, Königin, Drohnen und verschiedenalterige Brut — herbeizuschaffen. Als Hauptrepräsentanten des Nährmaterials müssen neben Wasser und Salzen der Blütenstaub (Pollen) und der Nektar, d. i. das kohlehydratreiche Sekret der Blütennektarien bezeichnet werden. Letztgenannte beide Stoffe werden von den Arbeitsbienen in dem Wachsbaue des Biens aufgespeichert und führen als solche die Bezeichnung Bienenbrot (der eingetragene Pollen) und Honig. Die Aufspeicherung des Honigs, dessen einzige natürliche Bestimmung es ist, dem Bien als Nahrung zu dienen, war gewiſs der Hauptgrund für den Menschen, die Biene zum Haustier zu wählen; denn der Honig des Biens wurde Nähr- und später auch Heilmittel den Menschen, und es nimmt uns nicht Wunder, wenn ihm unter den uns zur Verfügung stehenden Kohlehydraten eine Vorzugsstellung eingeräumt wird, die sich durch groſsen Begehr und eine höhere Preislage kund gibt. Der groſse Begehr nach Honig sowie der höhere Preis sind aber wieder die Gründe, warum unter der Bezeichnung Honig recht häufig Falsifikate angetroffen werden.

Wir finden unter der Bezeichnung Honig im Handel:

1. Natürliche und denaturierte Bienenhonige.
2. Kunsthonige, teils gute, teils weniger gute Nachahmungen des Honigs.
3. Mischhonige, hergestellt durch Mischung von Bienenhonigen mit Kunsthonigen oder billigen Zuckerarten.
4. Honigpräparate, die wir als »Fälschungen auf die Biene« bezeichnen müssen; sie werden in der Weise gewonnen, daſs die Bienenzüchter Lösungen von Rohrzucker, andern Zuckerarten oder Kunsthonigen an die Bienen in ihren Wohnungen während der Nacht verfüttern und bald darauf als »Honig« durch Schleudern entnehmen.

Bezüglich der natürlichen Bienenhonige möchte ich folgendes kurz erwähnen: Da in unsern Breitengraden an 1000 Arten honigender Pflanzen von den Bienen beflogen werden, wird es verständlich, warum die Honige verschiedener Gegenden nicht unerhebliche Unterschiede ihrer Zusammensetzung aufweisen, die schon durch Farbe, Geruch und Geschmack grob sinnfällig werden. Da nun weiters von den honigenden Pflanzen einzelne als Kulturpflanzen Anbau im Grofsen erfahren, wird es verständlich, dafs derartige Haupttrachten Honige mit ausgeprägteren Eigenschaften ergeben. Die Imker können daher mit gutem Rechte von Obstblüten-, Raps-, Akazien-, Esparsette-, Linden-, Phacelia-, Buchweizen- und Koniferenhonig sprechen.

Die Fortschritte der praktischen Bienenzucht veranlassen den rationellen Imker, den Honig wohl nur mehr mittelst Schleuderung zu gewinnen. Für den Honigkonsumenten hat diese Gewinnungsweise den Vorzug, dafs der Honig im Vollbesitze seiner natürlichen Eigenschaften verbleibt. Diesem Schleuderhonige steht qualitativ der Laufhonig gleich, der durch Zerstückeln von Honigwaben und Ablaufenlassen, wie auch der Prefshonig, der durch Pressen von Honigwaben gewonnen wird. Honige, die durch Einschmelzen von Honigwaben bei hoher Temperatur gewonnen werden, erleiden immer Einbufse an ihren natürlichen Eigenschaften; sie sind als denaturierte Honige nicht mehr vollwertig gegenüber den oben erwähnten Honigen. In der Bevorzugung der verschiedenen Honigsorten rücksichtlich Aroma, Geschmack und Aussehen aber spielen die individuellen Ansprüche und Gewöhnungen der Konsumenten die mafsgebendste Rolle.

Eingehende Untersuchungen des Honigs während der letzten Jahre haben ergeben, dafs sich im Honige neben den beiden Hauptbestandteilen — Invertzucker und Wasser — Spuren oder geringe Mengen anderer Zuckerarten, verschiedene Salze, Säuren, Eiweifskörper, Pollen, Wachs, ätherische Öle finden.

Schon im Jahre 1896 sprach sich der belgische Gesundheitsrat[1]) dahin aus, dafs eine Unterscheidung von Naturhonig und gutem Kunsthonig auf chemischem Wege unmöglich ist.

In besonders präziser Weise äußerte sich weiters das Deutsche kaiserliche Gesundheitsamt[2]) in einer Denkschrift, welche der Vertreter des Reichsamtes des Innern bei der Beratung einer Petition um Erlaß eines Honiggesetzes im Jahre 1900 zitierte; er sagte: »Der von den Bienen im Honigmagen erzeugte Invertzucker unterscheidet sich in nichts von dem Produkte, welches durch Spaltung des Rohrzuckers durch Säuren technisch im großen Maßstabe hergestellt wird. Zwar findet sich im Honige meist eine etwas größere Menge an Fruchtzucker als an Traubenzucker, wodurch die Linksdrehung des Honigs bedingt wird; es kommen aber auch unzweifelhaft reine Naturhonige vor, die rechtsdrehend sind, so daß sich darauf eine Beurteilung nicht gründen läßt. Wird der künstlich hergestellte Invertzucker auf die richtige Konzentration gebracht und in entsprechender Form mit einigen Hauptbestandteilen des natürlichen Honigs, wie Mineralstoffen, organischen Säuren, Wachsteilchen, Farbstoff, Pflanzengummi, ja sogar Pollenkörner, sind in künstlichen Honigen aufgefunden worden, versetzt oder auch mit einer gewissen Menge reinen Honigs vermischt, so wird ein solches als Honig vertriebenes Produkt bei der Analyse sich nicht wesentlich von dem Naturhonig unterscheiden.«

Diese Bekenntnisse so berufener Organe mußten meiner Anschauung nach geradezu anregend auf die »Honigindustrie« wirken und ihre überaus rege Tätigkeit rechtfertigt das unermüdliche Streben der reellen Imkerschaft, zu erwirken, daß die Bezeichnung Honig einzig und allein für das von den Bienen bei reellem Zuchtbetriebe eingetragene und in arteigenerweise beeinflußte Produkt gewahrt werde. In den letzten Jahren wurden des öfteren gerichtliche Prozesse wegen Honigfälschungen anhängig gemacht und die überführten Fälscher der verdienten Strafe zugeführt. Als wissenschaftlich betriebene Disziplin hat die Nahrungsmittelchemie ein großes ethisches Interesse daran, unter Zuhilfenahme exakter Methoden selbst sehr gute Imitationen der Nahrungs- und Genußmittel als Falsifikate zu erkennen. Entscheidet doch dies über die Entlarvung des Fälschers und dessen Bestrafung.

In Kenntnis der Methodik erschien es mir lohnenswert, neuere biologische Methoden zur Beurteilung des Honigs heranzuziehen; ich hoffte hierbei zugleich auf eine Erweiterung unserer derzeitigen physiologischen Kenntnisse des Honigs, über die ich in der mir zugänglichen Literatur folgendes vorfand: Rebling[3]) wies als erster nach, dafs der Nektar honigender Pflanzen Rohrzucker enthält. Während nun der Nektar nur 6,6% Rohrzucker aufweist, beträgt nach Erlenmayer und von Planta[4]) der Invertzuckergehalt bei jüngeren Honigen 66,6% und darüber, bei älteren Honigen bis 82,4%. Die genannten Autoren wiesen weiters nach, dafs der Blumennektar 0,048%, der Honig dagegen 0,2 bis 0,87% Stickstoff enthält. Bei der Umwandlung des Nektars zu Honig findet also statt: eine Wasserabgabe und eine Zuckerspaltung. Über die Art und Weise der Wasserabgabe sind die Anschauungen der Imker geteilt; die einen nehmen an, dafs, da es in den Bienenwohnungen zur Zeit der Haupttracht zu Temperaturen bis 35° C kommt, diese hohe Stockwärme die Bienen zu intensivem Fächeln mit den Flügeln veranlafst, wodurch eine dauernd wirksame Ventilation der Bienenwohnung und Wasserabdunstung herbeigeführt wird. Andere wiederum meinen, dafs die Bienen während der Nacht den tagsüber in den Wachsbau eingetragenen Nektar nochmals in ihren Körper aufnehmen und hier durch Wasserabgabe verdichten.

II.

Uber Fermente des Bienenhonigs.

Die Spaltung des Rohrzuckers zu Invertzucker erfolgt durch Fermente.

Schon im Jahre 1873 haben Fischer und v. Siebold[5]) die Speicheldrüsen der Bienen studiert und deren Bedeutung für die Bereitung des Bienenhonigs erkannt. Erlenmayer und v. Planta[4]) wiesen (1874) ein invertierendes und diastasierendes Ferment in den wässerigen Extrakten von Arbeitsbienen nach; sie stellten weiters fest, dafs der Honig und der eingetragene Pollen gleichfalls diese Fermente enthalten. Sie gewannen diese Stoffe als

Alkoholfällung in Form eines grauen, amorphen, leicht wasserlöslichen Niederschlages mit einem Stickstoffgehalte von 0,08 — 0,33 %.

Geleitet von dem Gedanken, die fermentative Kraft zu messen und so Anhaltspunkte für die Beurteilung echter Bienenhonige, ihrer Fälschungen sowie von Kunsthonigen zu gewinnen, griff auch ich (1902) zu diesen Alkoholniederschlägen. Der Gehalt der einzelnen Honige an durch Alkohol fällbaren Substanzen mufs als ein recht schwankender bezeichnet werden; er betrug in 100 g Honig meines eigenen Bienenstandes — darunter befanden sich unverdeckelter, frisch verdeckelter und im Vorjahre geschleuderter, bereits kristallisierter Honig — 0,049, 0,173, 0,377 g; ein mir als echt übergebener, kristallisierter Buchweizenhonig ergab sogar 1,073 g Niederschlag. Diese Alkoholniederschläge haben eine graue Farbe, sind im Wasser, besonders schwach alkalischem, leicht löslich und geben ganz klare braungelbe Filtrate. Direktes Sonnenlicht schädigt und zerstört die Fermente in diesen Lösungen ebenso wie der Eintritt von Fäulnis oder einfaches Aufkochen. Lufttrocken aufbewahrt zeigen derartige Alkoholniederschläge selbst nach mehreren Monaten noch hochwirksame, fermentative Kraft; Erhitzen derselben auf 100°C auch in ganz trockenem Zustande, vernichtet die Fermente.

Setzte ich einige Tropfen einer wässerigen Lösung eines solchen Alkoholniederschlages einer Rohrzuckerlösung zu, so liefs sich schon innerhalb weniger Minuten der Eintritt der Zuckerspaltung chemisch nachweisen. Die Polarisation einer mit einer solchen Fermentlösung versetzten Rohrzuckerlösung aber ist infolge ständiger Änderung der Polarisationsebene unmöglich.

Um die Stärke der Honiginvertase zu messen, ging ich folgendermafsen vor: 10 g Honig werden in 10 ccm destilliertem Wasser gelöst, durch ein nicht zu grofses Filter filtriert und dieses sodann mit 5 ccm Wasser nachgespült; das klare Filtrat wird sodann mit 150 ccm 96% Alkohols vereinigt, gut gemischt und durch 24 Stunden stehen gelassen. Der sichtbare flockige Niederschlag wird auf einem kleinen Filterchen

gesammelt und letzteres solange mit Alkohol gewaschen, bis der Verdunstungsrückstand des abtropfenden Alkohols keine Zuckerreaktion mehr gibt. Das lufttrockene Filterchen wird sodann in 100 ccm einer 5% polarisierten Rohrzuckerlösung gebracht und dieser zur Verhütung von Hefe- und Bakterieneinwirkung 0,3 g Fluornatrium zugesetzt. Als Kontrolproben dienten eine polarisierte 5% Rohrzuckerlösung und eine ebensolche, in welche während ihres Aufkochens ein Filterchen mit zuckerfreiem Honigalkoholniederschlag gebracht worden war.

Tabelle I gewährt Einblick in die erhaltenen Resultate.

Tabelle I.

	Polarisation bei Beginn	Änderung der Polarisation nach 1 Tag	3 Tagen	7 Tagen	Die Polarisation betrug im ganzen
5 proz. Rohrzuckerlösung	+3° 13′	+3° 13′	+3° 11′	+3° 11′	2′ (Fehlerquelle)
5 proz. Rohrzuckerlösung + Alkoholniederschlag aus 10 g unverdeckeltem 1902 er Langerhonig .	+3° 13′	+3° 13′	—	+3° 1′	12′
5 proz. Rohrzuckerlösung + Alkoholniederschlag aus 10 g frisch verdeck. 1902 er Langerhonig .	+3° 13′	—	+2° 42′	+1° 23′	1° 50′
5 proz. Rohrzuckerlösung + Alkoholniederschlag aus 10 g kandiert. 1901er Langerhonig	+3° 13′	2° 22′	+1° 19′	+ 53′	2° 20′
5 proz. Rohrzuckerlösung + Alkoholniederschlag von 10 g Buchweizenhonig 1901	+3° 13′	+1° 1′	+ 36′	— 36′	3° 49′
5 proz. Rohrzuckerlösung + Alkoholniederschlag von 10 g 1901er kandiert. Langerhonig (aufgek.) .	+3° 13′	—	+3° 10′	+3° 8′	5′ (Fehlerquelle)

Als recht gering erwies sich der Alkoholniederschlag meines frisch eingetragenen, noch unverdeckelten Honigs; dieses Produkt verdient auch nicht den Namen Honig, es ist noch ein

recht dünnflüssiger Nektar. Beim frisch verdeckelten 1902er Honig ist die invertierende Kraft schon gröſser, sie steigt weiters im 1901er Langerhonig und dem 1901er Buchweizenhonig; die Invertase des letzteren bewirkte eine vollständige Spaltung des Rohrzuckers mit Linksdrehung. Die reine Rohrzuckerlösung sowie die während des Aufkochens mit Honiginvertase versetzte Rohrzuckerlösung bieten keine Änderung ihrer Polarisation.

Ich füge hier weiters ein, daſs der Alkoholniederschlag meines auf 100° erhitzten Honigs keine Fermentwirkung mehr ergab; absichtlich von mir herbeigeführte Honigverdünnungen ergaben immer auch herabgesetzte Fermentwirkung ihres Alkoholniederschlages. Fehlen oder Verminderung des Fermentniederschlages stellte ich des weiteren bei einigen käuflichen Honigen fest. Ob wir berechtigt sind, von einer Normalgröſse der Honiginvertase in den verschiedenen Sorten echter Bienenhonige sprechen zu dürfen, darüber könnten nur eingehende Untersuchungen garantierter Naturhonige verschiedener Gegenden mit verschiedenen Trachtverhältnissen Aufschluſs bringen.

Meiner Vermutung nach dürfte der Gehalt an Invertase bei den einzelnen Honigsorten ein recht schwankender sein; es müſste daher zuvor durch eingehende Untersuchung die physiologische Breite des Gehaltes an Invertase festgestellt werden, bevor wir an eine Verwendbarkeit dieses Kriteriums zur Beurteilung des echten Honigs und seiner Verfälschungen denken können. Zu erwähnen wäre hier noch kurz, daſs der Honigalkoholniederschlag neben der invertierenden immer auch eine geringe diastatische Wirkung darbot.

Dieser Abgabe von fermentativ wirkenden Drüsensekreten beim Sammeln von in der Natur vorfindlichen Kohlehydraten scheint eine teleologische Zweckmäſsigkeit zugrunde zu liegen: die eingetragenen Nährmaterialien stehen vom Momente ihrer Aufnahme durch die sammelnde Biene dauernd unter dem Einflusse eines invertierenden und diastasierenden Fermentes und werden so zu resorbierbaren Kohlehydraten umgewandelt; bei der Auf-

nahme solcher Kohlehydrate als Nährmittel erhält die Biene aber auch zugleich noch wirksames Drüsensecret: so kommt das Drüsensekret der sammelnden Arbeitsbiene auch noch späteren Generationen zu Nutzen.

Wenn nun auch unter Berücksichtigung des eben Erwähnten die Abstammung der im Honig vorfindlichen Fermente von der Biene sehr wahrscheinlich ist, so verdient doch auch noch folgende Beobachtungstatsache volle Berücksichtigung. Mireau fand in den Früchten der Bananen, Bechamp in den Blüten der Akazie, des Mohns und der Rosen ein invertierendes Ferment. Diese Tatsache drängte zur Annahme, dafs gewifs auch andere Blüten Fermente enthalten dürften und ich stellte mir deshalb die Frage: Sind wir imstande, zu erkennen, ob die Honigfermente von der Biene oder aus Blüten stammen? Bezüglich der Differenzierung tierischer und pflanzlicher Fermente wissen wir heute ungefähr folgendes: Die Invertase pflanzlicher Herkunft spaltet den dreifachen Zucker, die Raffinose; die tierische Invertase vermag dies nicht. Ich[6]) konnte weiters feststellen, dafs Hefeinvertase auf mein rein dargestelltes Bienengift ohne Wirkung war, während tierische Fermente das Bienengift zerstörten. Die Honiginvertase spaltete Raffinose nicht, zerstörte aber das Bienengift; diese beiden Ergebnisse würden also auf eine tierische Abstammung der Honiginvertase schliefsen lassen.

III.

Die Eiweifskörper des Honigs als Antigene.

Eine einwandfreiere Klärung dieser Frage versprach ich mir durch Anwendung der serologischen Eiweifsdifferenzierung. Bereits im Jahre 1902 war es mir gelungen, durch Injektion von Lösungen der Alkoholniederschläge aus Honigen an Kaninchen präzipitierende Sera zu gewinnen. In den folgenden Jahren beschäftigte ich mich etwas eingehender mit der Fällung der Honigeiweifskörper durch Ammonsulfat. Hierbei zeigte sich, dafs diese Eiweifskörper fraktionierte Ammonsulfatfällungen boten. So trat erst bei 30% Ammonsulfat ein

Niederschlag auf, der bei weiterer Konzentration zunahm, bei 70% ergaben 100 g Honig 0,372 g Eiweifs.

Zur Gewinnung des Honigeiweifses für Injektionen dialysierte ich eine abgewogene Honigmenge durch 24 Stunden, versetzte das Dyalisat mit pulverisiertem Ammonsulfat und filtrierte den nach 24 Stunden entstandenen Niederschlag ab. Der Filterrückstand wurde in möglichst wenig Wasser aufgelöst und sodann behufs Entfernung des Ammonsulfats abermals durch 24 Stunden dialysiert. Das Dyalysat wurde gelegentlich unter Zusatz von 1% Toluol bei 40° eingeengt, meist aber so, wie es erhalten worden war, zur Injektion verwendet; zur Konservierung solcher Honigeiweifslösungen für längere Zeit genügte beim Einstellen in den Eisschrank der Zusatz von 0,5% Toluol. Ich injizierte in 6tägigen Zwischenräumen in steigender Dosis 5—15 ccm und tötete am 6. Tage nach der 5.—6. Injektion die Tiere durch Entbluten mittels einer in die Karotis eingebundenen Kanüle. Das sich abscheidende Serum wurde zentrifugiert und liefs sich durch Zusatz von 1/2% Toluol und Aufbewahren im Eiskasten durch mehrere Wochen als unverändert wirksam erhalten.*) Die Tiere vertrugen die Injektionen sehr gut, bei keinem derselben kam es zu Eiterungen. In die zeitlichen Verhältnisse des Eintrittes, sowie in die nach den einzelnen Injektionen erfolgende Zunahme der Antikörperbildung gewährt Tabelle II Einblick.

Tabelle II.

Kaninchen, injiziert am 12., 20. und 28. Oktober 1908 mit Langerhonigeiweifsdialysat; Blutentnahme am 19. X., 27. X. und 4. XI.

Blutentnahme	Verdünnung des Honigs					
	1/1	1/3	1/6	1/12	1/24	1/48
I. 19. X. 08	0	0	0	0	0	0
II. 27. X. 08	0	0	3 mm	3 mm	2 mm	1 mm
III. 4. XI. 08	0	3 mm	25 »	17 »	8 »	5 »

*) Um sich gegen Täuschungen zu sichern, empfiehlt es sich, länger aufbewahrtes Antiserum vor dem Gebrauche immer zu zentrifugieren, da in solchem Serum gelegentlich auch spontane Ausfüllungen zur Beobachtung kommen.

Ich vereinigte hierbei und auch bei den späteren Untersuchungen immer je 1 ccm Honigverdünnung und Antiserum in den von mir*) angegebenen und in mehrjähriger Anwendung als bewährt befundenen Zentrifugenröhrchen. Nach Zusatz eines Tropfens Toluol bewirkte ich durch Einblasen von Luft mit einer feinst ausgezogenen Pipette eine innige Mischung des Röhrcheninhaltes. Die Röhrchen wurden sodann mit guten Korken verschlossen, durch 5 Stunden in den Brutofen bei 37 °C eingestellt. Der um diese Zeit aufgetretene, meist schon mit freiem Auge sichtbare Niederschlag wurde durch 5 Minuten langes Schleudern in einer elektrisch betriebenen Zentrifuge mit 1500 Umdrehungen in der Minute in den schwachen Röhrchenteil abzentrifugiert und die Niederschlagssäule mit dem Millimetermafsstabe abgemessen. Unter ständiger Anwendung der gleichen Zentrifugenröhrchen, dauernder Einhaltung der beschriebenen Versuchstechnik, besonders gleich langer, genau eingehaltener Zentrifugierungszeit kam ich zu Resultaten, die man als einwandfrei vergleichbare zeichnen kann. Die folgenden Tabellen III a, b, c gewähren Einblick in so gewonnene Ergebnisse.

Tabelle IIIa.

Honigsorte	Honigteile	Wasserteile	Niederschlagshöhe
Langerhonig 1907	10	10	0
» »	8	10	0
» »	6	10	0
» »	4	10	2 mm
» »	2	10	7 »
» »	1	10	17 »
» »	1	20	6 »
» »	1	40	2 »
» »	1	80	1 »
» »	1	100	1 »

*) Münch. med. Wochenschr. 1904, Nr. 34. Ganghofner u. Langer.

Tabelle IIIb.

20 g Buchweizenhonig werden in 20 ccm Wasser gelöst und filtriert; von dieser Boniglösung werden die weiteren Verdünnungen hergestellt.

Teile der Honiglösung	Teile Wasser	Immunserum I durch Injektion von Langerhonigeiweifs	Immunserum II durch Injektion von Buchweizenhonig-eiweifs	Immunserum III durch Injektion von Bienenextrakt
8	2	0	0	0
6	4	0	0	0
4	6	0	0	0
2	8	8 mm	6 mm	Scheibchen
1	9	20 "	19 "	2 mm
1	19	13 "	14 "	4 "
1	39	5 "	13 "	2 "
1	79	2 "	12 "	1 "
1	159	1 "	5 "	Scheibchen
1	319	Scheibchen	1 "	0
1	640	0	Scheibchen	0

Tabelle IIIc.

10 g Honig werden in 10 ccm Wasser gelöst, filtriert: Lösung $^1/_1$.
1 ccm von $^1/_1$ + 2 ccm Wasser gibt Lösung $^1/_3$.
1 " " $^1/_1$ + 5 " " " " $^1/_6$ etc.

Honigsorte	Verdünnung der Honiglösung $^1/_1$	$^1/_3$	$^1/_6$	$^1/_{12}$	$^1/_{24}$	$^1/_{48}$
Langerhonig 1907 . .	0	16 mm[1])	30 mm	17 mm	8 mm	2 mm
Tirolerhonig 1908 . .	0	18 " [1])	32 "	18 "	10 "	3 "
Tannenhonig 1908 . .	0	20 "	21 "	13 "	5 "	Scheibchen
Buchweizenhonig 1907 .	0	17 "	23 "	21 "	9 "	4 mm

In diesen Tabellen finden sich verschiedene Verfahren verzeichnet, wie ich die Verdünnung des Honigs vornahm. Die ersten beiden, ziemlich umständlich und zeitraubend, wurden nach Erprobung des in Tabelle III c verzeichneten Vorgehens aufgegeben. Übereinstimmend aber besagen die Resultate:

I. Die aus natürlichen Bienenhonigen in angegebener Weise gewonnenen Eiweifskörper

1) Erst nach 10' langem Zentrifugieren genau abmessbar.

rufen nach subkutaner Injektion bei Kaninchen eine Antikörperbildung hervor.

II. Diese Antikörper geben mit ihren Antigenen im Honige Präzipitationen.

III. Die Präzipitation tritt in denOniglösungen immer erst bei einem gewissen Verdünnungsgrade auf, steigt bei weiteren Verdünnungen auf eine gewisse Höhe und nimmt bei noch weiteren Verdünnungen allmählich wieder ab.

Wir können so von einer Präzipitinkurve des Immunserums mit Honigverdünnungen sprechen; es galt zunächst festzustellen, welche Ursache dem Ausbleiben beziehungsweise geringeren Ausfall der Präzipitation in den honigreicheren Lösungen zu Grunde liegt. Die naheliegende Annahme, dafs es sich hier um den Einflufs von präzipitationshemmenden Körpern handelt, liefs in erster Linie an die Rückwirkung der Antigene auf das Immunserum denken. Diese Tatsache wurde ja von allen Autoren, die sich mit dem Studium dieser Frage beschäftigten, immer wieder bestätigt. Ich konnte, als ich zuckerfreie Honigdialysate verschieden stark einengte, nachweisen, dafs bei zunehmender Konzentration des Eiweifsgehaltes die ausfallenden Präzipitinmengen immer geringer wurden und schliefslich ganz ausblieben. Es liefs sich aber auch anderseits feststellen, dafs der Zusatz steigender Mengen pulverisierten Rohrzuckers zu einer dialysierten Honigeiweifslösung, deren Präzipitintitre zuvor bestimmt worden war, gleichfalls hemmend wirkte.

Daraus ergibt sich, dafs bei den Honigverdünnungen zwei Faktoren, Antigen- und Zuckergehalt in hemmender Weise einzuwirken vermögen. Es mufs weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben, nachzuweisen, ob den in Betracht kommenden Zuckerarten, Dextrose und Lävulose, eine verschieden starke Hemmungskraft zukommt und ob an diesen Hemmungen nicht auch noch andere Bestandteile des Honigs (ätherische Öle, lipoide Substanzen, Säuren etc.) mitbeteiligt sind.

IV.

Herkunft der Antigene.

Was das Hineingelangen der Eiweißkörper in den Honig anbelangt, so mußte an folgende Möglichkeiten gedacht werden:

I. Sie entstammen dem Pflanzenreiche.

II. Sie stammen von der Biene.

Wie bereits oben erwähnt, wies v. Planta im Blumennektar 0,048 % Stickstoff nach. Ob dieser nun dem Nektar als reinem Sekret angehört oder aber von dem Pollen, den wir in jedem Nektar und Honige antreffen, herrührt, darüber liegen meines Wissens keine Untersuchungen vor. In Betreff der Herkunft des Honigeiweißes aus dem Bienenkörper aber muß berücksichtigt werden: Das Sammeln des Nektars und das Aufspeichern desselben im Wabenbaue. Die honigsammelnde Biene entleert beim Aufsaugen süßer Flüssigkeiten ein sauerreagierendes Sekret; davon kann man sich jederzeit leicht überzeugen, wenn man Bienen an mit Zuckerwasser befeuchtetem, blauen Lackmuspapier saugen läßt. Die mit der Zunge berührten Stellen des Papiers verfärben sich intensiv rot. Den Erguß dieses Sekretes kann man beobachten, wenn man Bienen grob gestoßenen Zucker reicht; der von den Kiefern erfaßte Zucker wird immer zuerst verflüssigt und sodann aufgesaugt. Der Honigmageninhalt einer Nektar sammelnden Biene reagiert immer sauer; reicht man Bienen eine schwach alkalische, mit Lackmustinktur blau gefärbte Zuckerlösung, so findet sie sich im Honigmagen durch Säurewirkung gerötet. Diese Befunde besagen, daß bei der Nektar sammelnden Biene Drüsen in Tätigkeit traten, deren Sekret einerseits während des Saugens nach außen entleert wird, anderseits aber beim Schlucken mit dem aufgenommenen Süßstoff in den Honigmagen gelangt; bei und nach der Entleerung dieses Honigmageninhaltes in den Wachsbau kann eine Entfernung dieser Sekrete nicht mehr stattfinden. Es wäre nun weiters denkbar, daß durch das Verweilen des Honigs

im Wachsbau, der ja auch Brutstätte ist, von den Bienen stammendes Eiweiß in den Honig gelangt. Die Hinfälligkeit dieser Vermutung ließ sich folgendermaßen beweisen: Ich brachte sowohl in alte, wie auch in junge, frisch gebaute Wachswaben eine konzentrierte Rohrzuckerlösung und entnahm sie in verschieden langen Zeiträumen innerhalb eines Monates. Durch den Aufenthalt im alten Baue hatte die Zuckerlösung eine gelbliche Farbe angenommen, während sie in den jungen Waben farblos geblieben war; keine der Lösungen aber ergab mit Honigeiweißimmunserum Präzipitine.

Zu einer differenzialdiagnostischen Beurteilung des Honigeiweißes suchte ich in der Weise zu gelangen, daß ich Kaninchen mit Honigeiweiß, Bienenextrakten und mit wässerigen Auszügen der Blüten und des Samens honigender Pflanzen injizierte. Mit diesen verschiedenen Immunseris ließ sich folgendes feststellen:

I. Honigeiweißlösungen werden durch Bienenextraktimmunserum immer präzipitiert; auch hier wirken die stärkeren Konzentrationen der Honigeiweißlösung hemmend.

II. Honigeiweißimmunsera geben mit den wässerigen Extrakten von Köpfen und Bruststücken frisch getöteter Bienen oder ganzer Bienenmaden Niederschläge; Futtersaftverdünnungen werden gleichfalls präzipitiert.

III. Honigeiweiß- und Bienenextraktimmunsera ergeben mit den wässerigen Extrakten von Blüten und Samen honigender Pflanzen — untersucht wurden als Haupttrachtpflanzen meines Eigenbauhonigs Akazie, Esparsette, Linde, Phacelia — niemals Präzipitate. Ein mit Buchweizenhonigeiweiß injiziertes Kaninchen lieferte ein Serum, das mit Buchweizenhonigverdünnungen die charakteristische Präzipitinkurve ergab, während es den wässerigen Extrakt des Buchweizensamens — Blüten standen mir in dieser Zeit nicht zur Verfügung — nicht präzipitierte.

IV. Liefs ich Bienen eine sirupdicke Rohrzuckerlösung aufsaugen und erfafste ich solche Bienen mit der Pinzette, so gaben dieselben infolge des Druckes die aufgenommene Zuckerlösung zurück. Der an den Mundteilen hervortretende Tropfen wurde mit Kapillaren gesammelt: mit Honigeiweifsimmunserum vermischt trat Präzipitation auf. Dasselbe beobachtete ich bei der Untersuchung des Mageninhaltes von frischgetödeten, mit Rohrzucker gefütterten Bienen.

V. Durch Verfütterung von Rohrzucker an einen Bienenschwarm auf leeren Bau gewann ich einen »Fütterungshonig«, der, in verschiedenen Terminen entnommen, verschieden starke Präzipitation ergab.

Auf die Details dieser Ergebnisse werde ich in einer späteren Arbeit eingehen.

VI. Die hohe Spezifität der Honigeiweifsimmunsera für das Bieneneiweifs geht unter andern daraus hervor, dafs ein von mir im Sommer 1908 gesammelter Honig der Erdhummel von Bienenhonigimmunseris nicht präzipitiert wurde. Es spricht dies wohl deutlich dafür, dafs diese beiden Insekten keine so nahe Verwandte sein dürften, als welche wir sie auf Grund unserer heutigen Klassifizierung zu betrachten pflegen.

V.

Im eingetragenen Blütenstaube („Bienenbrote“) finden sich dieselben Eiweifskörper wie im Honige.

Aufser dem Nektar tragen die Bienen Blütenstaub, Pollen ein; sie bürsten ihn mit ihrer Zunge von den Staubgefäfsen der Blüte ab, feuchten ihn mit Honig und Speichel an und kneten ihn mit den Kiefern zu einem Knäuelchen; mit Hilfe des ersten und zweiten Fufspaares wird das Knäuelchen auf das dritte Fufspaar gebracht. Die Bienenzüchter bezeichnen diese Pollenpackung der Biene als »Hös-chen.« In den Wabenzellen werden diese »Höschen« eingestampft durch Druck mit den Füfsen und dem Kopfe. Die das Brutnest vorn und hinten

begrenzende Wabe enthält immer sehr viele mit Pollen gefüllte Zellen und wird deshalb auch **Pollenwabe** genannt. Der in den Wabenzellen vorfindliche Blütenstaub wird von den Imkern als »Bienenbrot« bezeichnet. Einige vorgenommene Wägungen ergaben mir, dafs dieses Bienenbrot ungefähr 80% Trockensubstanz enthält. Der wässerige Extrakt solchen Bienenbrotes ergab nach dreimaliger Filtrierung und Zentrifugierung eine gelb gefärbte Flüssigkeit, welche stark positive Zucker- und Eiweifsreaktionen, mit Honigeiweifsimmunserum aber die in Tabelle verzeichneten Präzipitinmengen ergab. Auch hier machte sich in den konzentrierteren Lösungen wieder ein hemmender Einflufs geltend. Es war mir erwünscht zu erfahren, wie stark der Eiweifsgehalt solcher Pollenextrakte ist. Ich schüttelte 5 g »Bienenbrot« mit 50 ccm Wasser unter Zusatz von Glasschrot energisch und filtrierte zweimal durch ein dreifaches Filter. Im Zentrifugate dieses Filtrates konnte ich keine Pollenkörner nachweisen. Das gelbgefärbte Filtrat reagiert stark sauer und behält diese Reaktion auch bei seiner Auffüllung auf 100 ccm. Ich versetzte je 10 ccm mit 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 g Ammonsulfat. Während nun in den Lösungen von 30% aufwärts schon innerhalb weniger Stunden flockige Niederschläge sichtbar wurden, war in der 20 proz. erst nach 24 Stunden eine geringe Menge eines flockigen Niederschlages aufgetreten, der in der 10 proz. trotz mehrtägiger Beobachtung vollständig ausblieb. Die Wägung der Niederschläge ergab:

bei	20%	Ammonsulfat	0,004 g.
»	30%	»	0,019 »
»	40%	»	0,020 »
»	60%	»	0,026 »
»	70%	»	0,028 »

Die Gewinnung dieser Niederschläge erfolgte in der Weise, dafs der Filterrückstand mit einer 100° C heifsen gleichkonzentrierten Ammonsulfatlösung behufs Entfernung des Zuckers gewaschen wurde; das Filter wurde sodann in der Trockenkammer auf 100° C erhitzt und schliefslich Ammonsulfat frei gewaschen, getrocknet und gewogen. 100 g Pollen würden demnach

5,6 g im Wasser lösliches Eiweifs enthalten, d. h. nahezu 15 mal mehr als der Honig.

Diese Tatsache erklärt uns von neuem die hohe Bedeutung des Bienenbrotes als Stickstoffspender bei der Ernährung des Biens. Da nun, wie bereits erwähnt, ein Honigeiweifsimmunserum mit einem solchen wässerigen Auszuge des Pollens intensive Präzipitation ergab, mufste die Identität des Pollen- und Honigeiweifses als von der Biene stammendes angenommen werden; die Art des Pollensammelns durch die Biene erklärt uns dies vollkommen. Der höhere Eiweifsgehalt des Bienenbrotes liefs letzteres zur Gewinnung des Eiweifses für Injektionszwecke geeigneter erscheinen als den Honig. Ich bediente mich nach Feststellung dieser Tatsache nur mehr wässeriger Pollenextrakte zur Gewinnung von Immunserum; die Gewinnung dieser Extrakte erfolgte folgendermafsen: Schütteln des Pollens nach Zusatz von Wasser und Glasschrot, Abfiltrieren, Fällung durch 70% Ammonsulfatzusatz, Abfiltrieren des Niederschlages nach 24 Stunden, Lösen des Filterrückstandes in möglichst wenig Wasser, Dialysation behufs Entfernung des Ammonsulfates, Konservierung durch Zusatz von 1% Toluol.

Die 4—5 malige Injektion solcher Polleneiweifslösungen ergab mir unter Einhaltung der oben beim Honigeiweifs angegebenen Injektionstechnik immer hochwertige Immunsera; diese kamen bei den weiteren Honiguntersuchungen fortan zur Anwendung.

VI.

Praktische Verwendbarkeit des Antigennachweises zur Beurteilung von Honig.

Nach reichlicher Nachprüfung der von mir gefundenen Tatsachen schien es mir wünschenswert, dieses Verfahren der biologischen Eiweifsdiagnose auf seine praktische Anwendbarkeit für die Beurteilung des natürlichen Honigs und seiner Ersatzstoffe, bzw. der Honigverfälschungen zu erproben. Ich unterdrücke hier eine nicht kleine Reihe verschieden modifizierte

Vorversuche. Da es mir galt, eine für alle Honige und Honigpräparate des Handels in Betracht kommende Methode zu schaffen, will ich das Verfahren, das sich mir am besten bewährt hat, mitteilen: Candierte Honige müssen durch Einstellen in ein Wasserbad bei 45—50° C verflüssigt und als solche mit einem Glasstabe gut vermischt werden. Hierauf werden 10 g des Honigs in 10 ccm Wasser gelöst; es ergeben sich meist 16 bis 16,5 bis 17 ccm Lösung, welche nach guter Mischung durch Schütteln filtriert wird. Von dem Filtrate werden 10 ccm zu je 5 ccm in zwei Dialysationshülsen von Schleicher u. Schüll in Düren, Rheinland, durch 24 Stunden gegen 2—3 mal gewechseltes destilliertes Wasser dialysiert. Die erhaltenen Dialysate sind sozusagen zuckerfrei; sie werden vereinigt und die Dialysationshülsen mit destilliertem Wasser nachgespült. Dialysat und Spülwasser werden sodann vereinigt und auf 30 ccm aufgefüllt und nochmals filtriert. Von dieser filtrierten Lösung, die als Originallösung mit O bezeichnet ist, werden die weiteren Verdünnungen: 1/5 (0,2 ccm + 0,8 ccm Wasser) und 1/10 (0,1 + 0,9 ccm Wasser) hergestellt. Vereinigt werden gleichfalls, wie bereits oben angegeben, je 1 ccm Immunserum und Verdünnung, sodann Zusatz von 1 Tropfen Toluol, Einstellen der Zentrifugenröhrchen durch 5 Stunden in den Brutofen, Zentrifugieren durch 5 Min. Unter Einhaltung dieser Methode vermochte ich bei meinem eigenen Honige sowie bei mir von befreundeten Imkern als unverfälscht übergebenen Honigen folgende Resultate zu verzeichnen:

Tabelle IV.

Honigsorte	Verdünnung des Dialysates		
	O	1/5 O	1/10 O
Langerhonig 1907	20 mm	4 mm	3 mm
Buchweizenhonig 1907	20 »	5 »	2 »
Stesselhonig 1907	21 »	8 »	3 »
I. Wisthonig 1908	21 »	7 »	2 »
II. » 1908	20 »	7 »	2 »
III. » 1908	20 »	7 »	3 »
Dr. P. Marburg	19 »	6 »	2 »

Die hier erhaltenen Zahlen bieten doch namentlich in den Originaldialysaten eine recht frappierende Übereinstimmung. Für

die Differenzen in den Verdünnungen fehlt mir bisher jede Erklärung. In der folgenden Tabelle V finden sich die Ergebnisse verzeichnet, die ich bei absichtlichen Verfälschungen meines eigenen Honigs erhielt. Als »Verfälschungsmittel« diente ein gekaufter Honig, der mit Immunserum nicht präzipitierte. Die Verfälschungen wurden in der Weise hergestellt, dafs ich die entsprechenden Mengen Honig und Verfälschungsmittel zusammenbrachte und die Gesamtgewichtsmenge Wassers dazu setzte. Nach vollständiger Lösung und inniger Mischung wurde filtriert, von dem Filtrate wurden 10 ccm sodann dialysiert und wie oben angegeben weiter behandelt.

Tabelle V.

Honigsorte	Verdünnung des Dialysates		
	O	$^1/_5$ O	$^1/_{10}$ O
Langerhonig 1907	20 mm	4 mm	3 mm
$^1/_3$ Fälschung: 2 Teile Langerhonig, 1 Teil Fälschung .	15 »	3 »	1 »
$^1/_2$ » 1 Teil Langerhonig. 1 » Fälschung .	13 »	2 »	Scheibchen
$^2/_3$ » 1 » Langerhonig. 2 Teile Fälschung .	12 »	$1^1/_2$ »	»
$^4/_5$ » 1 Teil Langerhonig. 4 Teile Fälschung .	8 »	Scheibchen	0
$^9/_{10}$ » 1 Teil Langerhonig. 9 Teile Fälschung .	5 »	»	0

Ich habe hier absichtlich Mischungsverhältnisse gewählt, wie sie im Handel vorzukommen pflegen. Der Abnahme des Bienenhonigs geht parallel eine Abnahme der Präzipitinsäulchen sowohl im Originaldialysate wie auch in dessen Verdünnungen; bei geringem Honiggehalte bleiben die Niederschläge in den stärkeren Dialysatverdünnungen schliefslich aus.

Es war mir sehr willkommen, 16 von einer Honiggrofshandlungsfirma in Berlin freundlichst überlassene Honigproben mit Immunserum zu untersuchen. Die Ergebnisse finden sich in Tabelle VI verzeichnet.

Tabelle VI.

Honigsorte	Verdünnung des Honigdialysates		
	O	$^1/_5$ O	$^1/_{10}$ O
Langerhonig 1907	20 mm	4 mm	3 mm
1. Elser	$23^1/_2$ »	6 »	2 »
2. Schwyz	20 »	4 »	2 »
3. Krser	20 »	4 »	1 »
4. Krse	20 »	4 »	1 »
5. Westind.	19 »	4 »	1 »
6. Havanna	18 »	4 »	1 »
7. Swils	17 »	8 »	$3^1/_2$ »
8. Strl	16 »	5 »	2 »
9. Stfn	16 »	1 »	Scheibchen
10. Havan. II Sdy.	16 »	1 »	»
11. Hss	16 »	9 »	4 mm
12. Italiener	15 »	3 »	1 »
13. Plmm	15 »	3 »	1 »
14. Sch. Rheinh.	12 »	$2^1/_2$ »	Scheibchen
15. Sper	9 »	1 »	»
16. Wiesn	8 »	1 »	»

Neben Honigen, die nahezu gleichstark wie mein Honig präzipitierten, finden sich andere, deren Niederschlagsmengen geringer waren, ja einzelne der Honige boten so geringe Niederschläge wie sie bei den höhergradigen Verfälschungen meines Eigenbauhonigs zu Tage getreten waren. Ich halte mich für berechtigt, auf Grund meiner bisherigen Ergebnisse anzunehmen, dafs es sich in all diesen Fällen um, durch verschieden starken Zuckerzusatz veränderte, echte Bienenhonige handelt. Möglicherweise handelt es sich auch um sogenannte »Honigfälschungen auf die Biene«, also Fütterungshonige. Leider konnte mir die Firma keine chemischen Untersuchungsbefunde mitteilen.

VII.

Welche Faktoren beeinflussen den biologischen Eiweifsnachweis im Honig?

Am Ende meiner Mitteilungen will ich noch die Faktoren besprechen, welche auf den qualitativen und quantitativen Ausfall der Präzipitinreaktion mittelst Immunserum Einflufs haben.

Ein jeder Eingriff, der eine Denaturierung der Eiweifskörper eines Honigs herbeiführt, vermindert oder vernichtet die Präzipitierbarkeit; als ein solches Verfahren mufs das Erhitzen der Honige auf 70° C und höher bezeichnet werden. Je höher die Temperatur, desto intensiver die Denaturierung: Ein solcher Honig erleidet Einbufse an Aroma, die Fermente und Eiweifskörper werden zerstört, der Zucker kann karamelisiert werden. Solche Honige geben keine Niederschläge mit Immunserum. Honige, die durch Schleudern noch nicht verdeckelter Waben gewonnen werden, sind, wie oben erwähnt, noch wasserreicher und eiweifsärmer; sie vergären leicht und erleiden hierbei eine weitere Einbufse an ihrem Eiweifsgehalte. Gegenüber normalen Honigen bieten sie immer eine Herabsetzung ihrer Präzipitationsgröfse.

Ein eingehenderes Studium verlangen die des öfteren erwähnten »Honigfälschungen auf die Biene«, Produkte, die man durch Verfüttern von Rohrzucker- oder Kunsthoniglösung an Bienen erhält.

In folgender Tabelle finden sich die Ergebnisse verzeichnet, die ich mit einem solchen durch Rohrzuckerfütterung am eigenen Bienenstande erzeugten Produkte erhielt; daneben finden sich fünf Honige von einem norddeutschen Imkerredakteur, der sich schon wiederholt als Anhänger der Honiggewinnung durch Zuckerfütterung bekannt hat. Mein Honig ist als Kontrollhonig beigefügt.

Tabelle VII.

Honigsorte	Verdünnung des Honigs mit Wasser 1/1	1/3	1/6	1/12	1/24
B I	0	0	24 mm	9 mm	5 mm
B II	1 mm	5 mm	5 »	4 »	1 »
B III	0	8 »	16 »	11 »	5 »
B IV	0	10 »	16 »	6 »	1½ »
B V	Scheibchen	14 »	10 »	3 »	1
Eigene Zuckerfütterung, nach 12 Stunden entnommen .	6 mm	15 »	3 »	1 »	1 »
Eigene Zuckerfütterung, nach 7 Tagen entnommen . . .	0	3 »	16 »	16 »	11 »
Langerhonig 1907	0	20 »	30 »	15 »	8 »

1) Der Präzipitinniederschlag ist erst nach 10—15' langem Zentrifugieren abgesetzt.

Ich will diese Ergebnisse nicht eingehender besprechen, da dieselben noch Gegenstand weiterer, bereits in Angriff genommener Untersuchungen sind.

Stampfhonige dürften im allgemeinen stärkere Präzipitation geben als Schleuderhonige, da durch das Zerdrücken von Brut und Bienen der Eiweifsgehalt vermehrt wird.

Aus diesen Tatsachen könnte nun die Honigindustrie die Folgerung ziehen, dafs durch Zusatz von Bienen- oder Bienenbrutextrakten zu, chemischen Anforderungen voll entsprechenden, Kunsthonigen ein Präparat gewonnen werden kann, bei dem die Methode der meinen Untersuchungen zugrunde liegenden biologischen Eiweifsdifferenzierung versagen mufs. Dahingegen möge schon heute darauf hingewiesen werden, dafs es leicht gelingt, derartige Fälschungen durch kombinierte Untersuchungen zu erkennen; viel schwieriger dagegen dürfte die Beurteilung werden, wenn Präparate vorliegen, die durch Verfüttern von genau eingestellten Invertzuckerlösungen an die Biene gewonnen wurden; allem Anschein nach aber dürfte eine einwandfreie serologische Beurteilung auch dieser Kunstprodukte möglich sein.

Zweifellos steht fest, dafs durch Anwendung der biologischen Eiweifsdifferenzierung unser Urteilsvermögen über Honige eine nicht unwesentliche Erweiterung und Vervollkommnung erfährt, zumal, wenn die chemischen Untersuchungsergebnisse durch den biologischen Befund ergänzt werden. Das biologische Verfahren möge jetzt Gegenstand eingehender Nachuntersuchungen werden. Diese werden über den Wert und die praktische Anwendbarkeit desselben zu entscheiden haben.

Literatur.

1) Pharmazeutische Jahresberichte 1890, S. 375. 2) Pharm. Jahresber. 1900, S. 597. 3) Pharm. Jahresber. 1868, S. 317. 4) Malys Jahresber. 1879, S, 264, 266. 5) v. Siebold, Pharm. Jahresber. 1873. 6) Arch. internat. f. Pharmak. u. Pharmakodynamie 1898.

Zur Ätiologie des Flecktyphus[1].

Von

Dr. med. **Markus Rabinowitsch.**

(Aus dem Alexander-Krankenhaus zu Kiew.)

Einleitung.

Der Flecktyphus hat in ganz gleicher Weise wie die anderen infektiösen Krankheiten, welche immer von Exanthemen begleitet werden, schon sehr früh die Aufmerksamkeit der Forscher auf sich gelenkt.

Die Tatsache, daſs der Flecktyphus auſserordentlich ansteckend ist, hat die Veranlassung dazu gegeben, als Erreger desselben gasförmige Substanzen, die der atmosphärischen Luft beigemengt sein sollen, zu betrachten.

Und erst seit den klassischen Untersuchungen von Henle, besonders aber seit denjenigen von Griesinger, in denen mit einem bewundernswerten Scharfsinn auf Grund klinischer Beobachtungen und epidemiologischen Nachforschungen die Erklärung gegeben wurde, daſs der Erreger einer jeden Infektionskrankheit nur ein Contagium vivum sein kann und muſs, hat man von der chemischen Natur des Contagiums Abstand genommen.

---

1) Im Auszuge, mit Demonstrationen von Histologischen Blut- und Reinkulturpräparaten, wie auch von Reinkulturen des Diplobazillus auf verschiedenen Nährböden und der Agglutinationsversuche, mitgeteilt am 5./18. M im Ärzteverein des Alexander-Krankenhauses.

Griesinger war auch der erste, der die chemische Natur des Flecktyphuscontagiums zurückwies und es für ein staubförmiges, korpuskuläres erklärte.

Und schon Ende der sechziger Jahre des vorigen Jahrhunderts hat Hallier Mikrokokken beschrieben, die er im Blute der Flecktyphuskranken beobachtete, und hat dabei die Behauptung aufgestellt, daſs diese, seiner Meinung nach, ganz besondere Mikrokokken die Erreger des Flecktyphus sein sollen.

Aber diese erste Beobachtung von Hallier fand keine Bestätigung bis zur Zeit, als die Bakteriologie zu einer selbständigen, streng wissenschaftlichen Disziplin herangewachsen ist.

Seit dieser Zeit wurden wiederholt ähnliche Mikrokokken, wie auch verschiedene andere, voneinander ganz abweichende Keime beschrieben und als die spezifischen Erreger des Flecktyphus gedeutet, aber trotzdem ist die Frage über die Ätiologie des Flecktyphus bis jetzt bei weitem noch nicht aufgeklärt.

Noch im Jahre 1908 haben Kolle und Hetsch in der zweiten Auflage ihrer »Experimentelle Bakteriologie«, in Anbetracht der Fülle von »Flecktyphuserregern«, die bis jetzt entdeckt wurden, folgende ganz zutreffende Auſserung gemacht: »Ehe nicht an einem groſsen Krankenmaterial in den verschiedenen Ländern, in denen der Flecktyphus vorkommt, konstante, nur bei dieser Infektion zu erhebende Mikroorganismenbefunde sichergestellt sind, müssen wir von jeglicher Schluſsfolgerung über die Ätiologie des Typhus exanthematicus absehen.«

Damit aber die von mir gemachten Beobachtungen, die ich ganz objektiv mitteilen will, ohne vorläufig weitgehende Schlüsse aus denselben zu ziehen, nicht einfach die Zahl der bisher entdeckten »Erreger« vermehren, sondern die Veranlassung zur Nachprüfung geben sollen, halte ich es für notwendig, bevor ich zur Schilderung meiner eigenen Untersuchungen übergehe, auf die früheren Untersuchungen zurückzukommen und dieselben etwas ausführlicher zu schildern.

Das mufs, wie mir scheint, auch aus dem Grunde geschehen, dafs selbst in den gröfsten Handbüchern der Bakteriologie, wie z. B. in demjenigen von Kolle und Wassermann, dem Flecktyphus nur einige Zeilen gewidmet sind, obgleich die Zahl der Untersuchungen, die bis jetzt mitgeteilt wurden, wie die weitere Schilderung zeigen wird, nicht zu klein ist.

Frühere Untersuchungen.

Nach Hallier, der zuerst Mikrokokken im Blute der Flecktyphuskranken beobachtet und beschrieben hat, teilte im Jahre 1883 Mott mit, dafs er im Blute der Flecktyphuskranken bewegliche Spirillen beobachtet hat. Im Jahre 1888 haben Moreau und Cochez aus dem Blute und Harn der Kranken ein Stäbchen mit abgerundeten Enden, welches etwas länger und dicker als der Tuberkelbazillus und unter gewissen Bedingungen beweglich sein sollte, dargestellt und dasselbe als den Flecktyphuserreger gedeutet.

Ein ähnliches, aber ganz kurzes Stäbchen mit abgerundeten Enden hat auch Cheesmann im Blute der Kranken gefunden. Die Stäbchen liegen nach Cheesmann meist paarweise oder in kurzen Ketten ebenso im Blute wie in der Reinkultur, die er ausschliefslich auf Serum gewinnen konnte, und als »Bacillus sanguinis typhi exanthematici« bezeichnete.

Im Jahre 1889 hat Hlava seine auf 47 Fälle sich beziehende Untersuchungen mitgeteilt. In 8 Fällen hat er das Blut von Flecktyphuskranken, in 39 von an Flecktyphus verstorbenen untersucht und fand im Blute von 2 Kranken und 22 Leichen kurze Stäbchen von ovoider Form, die vereinzelt, meist aber zu zweien oder in kurzen zusammenhängenden Ketten lagen und die er »Streptobazillen« genannt und als den spezifischen Erreger des Flecktyphus betrachtet hat.

Hlava hat diese Stäbchen auch in Reinkultur gewonnen und mit derselben regelmäfsig bei Ferkel Temperaturerhöhung und Abmagerung und in einem Fall aufserdem auch grofse rote Flecken an der Haut hervorrufen können.

Ein Jahr später hat Babes im Blute von 2 Leichen bewegliche Bakterien beobachtet, die aus einem runden Körnchen und langem Faden bestehen und oft paarweise liegen.

Babes gelang es auch die Bakterien auf Agar zu züchten, trotzdem erlaubte er sich aus diesen beiden Fällen, von denen er, wie er selbst betont, nicht überzeugt ist, dafs es sich in diesen Fällen sicher um Flecktyphus gehandelt hat, irgendwelche Schlüsse zu ziehen.

Im Jahre 1892 teilten Thoinot und Calmette ihre auf 7 Fälle sich beziehenden Beobachtungen mit. Diese Autoren untersuchten in 2 Fällen das Blut aus dem Herz und der Milz von an Flecktyphus Verstorbenen, in 5 Fällen aus der Milz und einmal aus einer Fingerkuppe intra vitam.

Von diesen 7 Fällen wurde die Untersuchung des Blutes eines Falles erst 15 Tage nach der Entnahme ausgeführt und blieb ohne Erfolg.

Dagegen wurden in den übrigen 6 Fällen übereinstimmende Ergebnisse erhalten. In sämtlichen Fällen haben die Autoren 10—30 μ lange, intensiv bewegliche Fäden beobachtet, die an einem Ende Anschwellungen von der Gröfse $^1/_3$—$^1/_4$ μ hatten. Etwas kleinere Anschwellungen wurden des Fadens entlang beobachtet. Die Bewegung der Fäden dauerte bis 2 Stunden, und im Laufe dieser Zeit kamen sie zum Zerfallen. Diese Fäden zu färben, ist den Autoren nicht gelungen.

Aufser den Fäden mit Anschwellungen haben Thoinot und Calmette regelmäfsig im Blute noch 1—2 μ *grofse* Körnchen, aus denen ganz feine Fäden ausliefen, beobachtet.

Über die Natur der beobachteten Elemente äufsern sich Thoinot und Calmette dahin, dafs es wahrscheinlich protozoenartige Parasiten sind, sie geben aber zu, dafs die von ihnen im Blute der Flecktyphuskranken beobachteten Körnchen und Fäden mit denjenigen, die von zahlreichen Autoren bei verschiedenen anderen Krankheiten und selbst im Blute von gesunden Menschen beobachtet und beschrieben wurden, identisch sein können.

Später hat Calmette allein die Untersuchungen über den Flecktyphus fortgesetzt. Er untersuchte nicht nur das Blut,

sondern auch den Auswurf und den Harn der Kranken, kam aber diesmal zu ganz abweichenden Resultaten.

Calmette hat zwar auch diesmal die erwähnten Körnchen und Fäden regelmäfsig im Blute der Kranken finden können; hat er aber das Blut nach längerem Aufbewahren in verschmolzenen Pipetten untersucht, so konnte er folgende Erscheinungen in denselben beobachten: die Fäden veränderten sich in 70 bis 80 μ lange Spirillen, die 1—2 ›Sporen‹ enthielten.

Aufserdem fand Calmette im Blute grofse an Eier erinnernde Gebilde mit einem doppelten Saum, die in weifsen Blutkörperchen eingeschlossen waren. Dieselben Gebilde hat er auch im Harn und Auswurf beobachtet.

Diese Gebilde gaben kein Wachstum auf alkalischen Nährböden, wuchsen aber vorzüglich auf sauren und Zucker enthaltenden Nährböden.

Die mikroskopische Untersuchung der Reinkultur ergab an Hefepilze erinnernde Gebilde.

Die Tierversuche mit der Reinkultur fielen negativ aus.

Auf Grund dieser seiner Untersuchungen ist Calmette zum Schlufs gekommen, dafs der Flecktyphus durch einen Ascomycetes oder Restilagineae-Pilz erzeugt wird.

Und da diese Pilze in den Pflanzenkern schmarotzen, so glaubt Calmette annehmen zu müssen, dafs die Infektion mit dem Flecktyphus in der Weise zustande kommt, dafs die Pilze durch den Mund in den Magen gelangen, sich im saueren Milieu desselben stark vermehren und durch die weifsen Blutkörperchen über den ganzen Körper verbreitet werden. Nachdem die Sporen in dieser Weise ins Blut gelangt sind, wachsen sie zu Spirillen aus und werden endlich durch die Nieren ausgeschieden.

Bemerkenswert ist aber die Tatsache, dafs alle diese merk
würdigen Befunde Calmette nur in denjenigen Blutprobe
feststellen konnte, die längere Zeit nach der Entnahme unte
sucht wurden, während er früher in den zusammen mit Thoin
ausgeführten Untersuchungen gerade die längere Zeit au
bewahrten Blutproben steril fand.

Im Jahre 1892 hat auch Lewaschew seine ersten Beobachtungen über den Flecktyphuserreger mitgeteilt.

Lewaschew hat in ähnlicher Weise wie Thoinot und Calmette zur Untersuchung das Blut aus einer Fingerkuppe oder aus der Milz der Kranken entnommen.

Bei einer Vergröfserung von 600—800 mal konnte er nichts Besonderes im Blute der Kranken feststellen, hat er aber dasselbe Blut bei einer Vergröfserung von 2000—2500 mal unter dem Mikroskop beobachtet, so konnte er verschieden grofse, ganz runde und stark lichtbrechende Körnchen beobachten, die in sehr intensiver Kreis- und Vorwärtsbewegung sich befanden.

Bei näherer Beobachtung, besonders beim hellen Sonnenlichte, konnte Lewaschew auch feststellen, dafs aus den Körnchen ganz feine Fäden von verschiedener Länge ausliefen, die ebenso in intensiver Bewegung sich befunden haben sollen.

Auch die von Thoinot und Calmette beschriebenen Anschwellungen an den Fäden hat Lewaschew beobachtet, fand aber neben derartigen Fäden auch solche, die von Körnchen ganz frei waren, wie auch Körnchen, die je einen auslaufenden Faden auf jedem entgegengesetzten Pole hatten.

Die Bewegung dieser Gebilde war im Anfange der Beobachtung sehr intensiv, wurde aber allmählich immer schwächer und hörte bald ganz auf, was der Autor auf die Abkühlung und Gerinnung des Blutes zurückführen zu müssen glaubt.

Sämtliche beschriebene Gebilde wurden von Lewaschew viel spärlicher im Blute aus der Fingerkuppe als in demjenigen aus der Milz beobachtet, aber selbst im Blute aus der letzten wuchs die Zahl derselben mit der Dauer des Krankheitsanfalles, und vor der Krisis war ihre Zahl am gröfsten.

Über die Kulturversuche erwähnt hier Lewaschew nur ganz kurz und nebenbei, dafs dem Stich entlang in Ascites-Agar nach 24 Stunden bei 35—37° C sich eine feine weifsliche Wolke entwickelt, die aus einer Reinkultur von ganz kleinen Kokken besteht. Weitere nähere Angaben über die Art und Zahl der Versuche fehlen hier gänzlich.

»Bei der mikroskopischen Untersuchung des Blutes der Flecktyphuskranken — sagt in seiner ersten Mitteilung Lewaschew — werden also sehr verschiedene Gebilde beobachtet:

1. Runde Körperchen, die wir als Kokken anerkennen müssen (Micrococcus exanthematicus);
2. Bewegliche Fäden (Spirillen) und
3. Körperchen mit einem langen Sproſs, vom Aussehen eines ähnlichen Fadens, die wir Kokkospirillen oder Spirochätenmikrokokken nennen müssen.«

Und daraus zieht Lewaschew den Schluſs, daſs »aus allen Tatsachen, die bis jetzt (von ihm) festgestellt worden sind, unzweifelhaft folgt, ‚daſs dem Flecktyphus ganz besondere pathognomische Parasiten eigen sind, die an die Parasiten der Febris recurrens erinnern, aber zu gleicher Zeit sich wesentlich von den letzteren unterscheiden, nach deren Anwesenheit im Blute jedoch die Krankheit in ähnlicher Weise, wie es bei der Febris recurrens geschieht, festgestellt werden muſs'«.

Kurz nach dieser ersten Mitteilung folgte die zweite, in der Lewaschew schon angibt, daſs er weitere 25 Fälle untersucht hat.

Hier betont der Autor ausdrücklich, daſs er bei seinen weiteren Untersuchungen das Hauptgewicht auf die Kulturversuche gelegt hat, weil in der Tat, wie allgemein bekannt ist, im Blute beständig in sehr groſser Zahl ganz kleine Körnchen zum Vorschein kommen, die im höchsten Grade schwer von sehr zahlreichen Parasitenarten zu unterscheiden sind.

Hier erwähnt Lewaschew wiederum, daſs die Kokken nur in Ascitis-Agar dem Stiche entlang wachsen und erzeugen hier nach 24 Stunden bei 36—37° C eine feine weiſse Wolke.

Übereinstimmende Resultate erhielt der Autor aus dem Fingerblute, wie aus dem Milzblute, und nicht nur während des Krankheitsanfalles, sondern auch noch einige Tage nach der Krisis.

Im hängenden Tropfen fand er im Mikroskop bei einer Vergröſserung von 1000 mal das ganze Gesichtsfeld mit ganz kleinen Kokken wie besät.

Gröſstenteils lagen die Kokken vereinzelt, seltener paarweise, und noch seltener in kleine Ketten vereinigt; die einen waren unbeweglich, die anderen befanden sich in intensiver Bewegung.

Durch die Löfflers Geiſselfärbung lieſsen sich an den Kokken immer Sprossen nachweisen, die 6—10mal gröſser als die Kokken selbst waren und die an Spirillen erinnerten.

Bemerkenswert ist aber die Behauptung des Autors, daſs er die Reinkultur auch aus dem Blute, welches einige Tage nach der Krisis vom Kranken entnommen wurde, gewinnen konnte, obgleich die »Kokkospirillen«, wie er selbst weiter betont, schon vor der Krisis aus dem Blute verschwinden und dabei sich in der Weise vor dem Verschwinden verändern, daſs die Kokken gröſser und ihre Sproſsfäden dicker werden; die letzteren bekommen dabei nicht selten zahlreiche, die Gröſse des Kokkus erreichende Anschwellungen.

Gleich darauf in demselben 1892. Jahre wurden die Angaben Lewaschews von Weinschal, Lubimow und Matschinsky nachgeprüft.

Weinschal hat in 10 Fällen von Flecktyphus das Blut untersucht und konnte dabei weder die von Lewaschew beschriebenen noch irgendwelche anderen Bakterien in demselben finden.

Lubimow untersuchte in 14 Fällen das Blut von Flecktyphuskranken, aber in gefärbten Präparaten.

In den Präparaten, die in gewöhnlicher Weise gefärbt waren, konnte Lubimow keine Parasiten finden, hat er aber die Blutpräparate 24 Stunden im Thermostaten bei 37° mit Methylenblau gefärbt, dann konnte er vereinzelt zerstreute runde Körperchen wahrnehmen, die meist in der Nähe von Blutkörperchen oder -Plättchen lagen und die er als unzweifelhafte Mikroben betrachtete.

Viel zahlreichere »Mikroben« — ganze Gruppen von 3—5—10—20 Stück — von der Gröſse 0,3—0,5 μ fand aber Lubimow, wenn er die Blutpräparate mit Karbolfuchsin, unter Erwärmen bis zur Dämpfung, gefärbt und nacher mit Alkohol entfärbt hat.

Geifseln bei diesen »Mikroben« durch Löfflers Geifselfärbung nachzuweisen, ist Lubimow nicht gelungen, und er hat deshalb die Vermutung ausgesprochen, dafs von Lewaschew als Geifseln Eiweifssubstanzen des Blutes gedeutet wurden.

Matschinsky konnte bei keinem der 6 von ihm untersuchten Flecktyphuskranken irgendwelche Mikroben im Blute nachweisen, dagegen fand er im Sputum sämtlicher 36 von ihm untersuchten Fälle Kokken, die in kleinen Haufen oder kurzen Ketten zusammengesetzt waren. Zahlreiche der Kokken waren dabei durch einen Spalt in zwei Halbkugeln geteilt.

Dieselben Kokken konnte Matschinsky auch bei den Entzündungen der Ohren, bei Parotitis und in den Hautabszessen der Flecktyphuskranken, ebenso wie in den Schnitten durch die Lungen und die Milz der Verstorbenen nachweisen.

In den spärlichen Kulturen, die der Autor aus dem Auswurf angelegt hat, bekam er dieselben Kokken.

Im nächsten Jahre untersuchten Dubief und Bruhl 9 Flecktyphuskranke, von denen 6 gestorben und seziert wurden.

Zuerst haben die Autoren das Blut aus der Milz und den Hautexanthemen untersucht und fanden in denselben einen zarten Diplokokkus.

Denselben Diplokokkus haben die Autoren auch im Auswurfe und im Safte aus den pneumonischen Lungen der Flecktyphuskranken gefunden und in grofsen Mengen. Auch in den Schnitten durch die Lungen, die Milz und Hautpetechien haben Dubief und Bruhl die Diplokokken nachweisen können, und in den Schnitten durch die Infarkte der Milz und der Nieren eines Falles wurde beinahe eine Reinkultur von den Diplokokken gefunden.

Aus dem Blute angelegte Kulturen blieben steril, dagegen gelang sehr leicht nach 24 Stunden die Reinkultur aus dem Auswurf und dem pneumonischen Saft zu gewinnen.

Bei Kaninchen, denen die Reinkultur in die Ohrenvene injiziert wurde, stieg am nächsten Tage die Temperatur bis 41° und sie gingen nach 3 Tagen zugrunde. Aus dem Blute d

Kaninchen die Diplokokken in Reinkultur wieder zu gewinnen, ist den Autoren nicht gelungen.

Auf Grund aller dieser Beobachtungen kommen Dubief und Bruhl zum Schlusse, dafs der von ihnen gefundene Diplokokkus für den Flecktyphus pathognomisch ist und nennen ihn »Diplokokkus exanthematicus«. Ähnliche Diplokokken haben bald darauf auch Balfour und Porter bei zahlreichen Flecktyphuskranken, aber aufserdem auch bei 40 unter 46 Fällen von Abdominaltyphus gefunden.

Zu gleicher Zeit haben auch Curtis und Combemal ihre auf 12 an Flecktyphus Verstorbene sich beziehenden Untersuchungen mitgeteilt.

Diesen Autoren gelang auch in drei der untersuchten Fälle, die nach 2, 8 und 12 Stunden post mortem seziert wurden, aus der Gehirnsubstanz und der Milz einen kleinen Diplokokkus auf Agar, Serum und Bouillon zu züchten. Bei den übrigen Fällen, von denen die einen nach der Krisis tödlich verliefen, die anderen längere Zeit post mortem zur Sektion kamen, fielen die Kulturversuche negativ aus.

Im Jahre 1894 teilte Lewaschew seine weiteren Beobachtungen mit und summierte gleichzeitig die Ergebnisse sämtlicher seiner bis dahin ausgeführten Untersuchungen, die sich im ganzen auf 118 Fälle beziehen.

Wenn Lewaschew in den ersten seiner Mitteilungen behauptet hat, dafs er regelmäfsig in den frischen, wie auch in den nach Löffler gefärbten Blutpräparaten an den Kokken spirillenartige Sprossen nachweisen konnte, so betont er hier ausdrücklich, dafs es ihm in den getrockneten und gefärbten Präparaten, die Sprossen an den Kokken nachzuweisen, »trotz der gröfsten Bemühungen, kein einziges Mal gelungen ist«.

Aber selbst in den nativen Blutpräparaten konnte er diese Sprossen selbst bei den stärksten Vergröfserungen (bis 3000 mal!) nicht mehr direkt beobachten, er hat sie vielmehr nur vermuten können auf Grund dessen, dafs einige Mikrokokken in einer gewissen Entfernung von den Blutkörperchen, »wie befestigt durch einen Faden« unbeweglich lagen.

»Derartige Bilder lassen es für sehr wahrscheinlich erscheinen — sagt hier Lewaschew —, dafs wenn auch nicht sämtliche, so doch wenigstens viele dieser Mikrokokken im höchsten Grade feine Sprossen besitzen müssen, die mit Hilfe unserer jetzigen Instrumente (trotz der zur Verfügung gestandenen Vergröfserung von 3000 mal!) nicht erkannt werden können.«

Was die Stäbchen anbelangt, die von anderen Autoren im Blute der Flecktyphuskranken beobachtet wurden, so gibt **Lewaschew** zu, dafs man bei einer Vergröfserung von 1000 bis 1500 mal in der Tat wie Stäbchen aussehende Gebilde findet, die aber bei den **stärksten** Vergröfserungen sich als aus Kokken zusammengesetzt ergeben.

Die Reinkultur gelang Lewaschew nach den letzten Angaben schon in sämtlichen 118 Fällen zu gewinnen. Auch hier erwähnt der Autor, dafs die Mikrokokken ausschliefslich dem Stich entlang in Ascites-Agar und nie im Nährboden aufserhalb des Stiches oder an dessen Oberfläche wachsen; ebenfalls in flüssigen Nährböden, wie Menschenserum, Hühnereiweifs und Bouillon, konnte er kein Wachstum konstatieren.

Die Kultur bekam er häufiger aus dem Milzblute als aus dem Fingerblute. Lewaschew weist aber dabei darauf hin, dafs von zahlreichen geimpften Röhrchen nur in vereinzelten ein Wachstum konstatiert werden kann, und die Zahl der steril bleibenden Röhrchen um so gröfser wird, je später im Krankheitsanfalle das Blut entnommen wird.

Die Reinkultur bestand aus Mikrokokken, von denen einige mit verschieden langen Schwänzen versehen waren.

Ähnliche Mikrokokken wie im Blute konnte Lewaschew auch in der Flüssigkeit der Conjunctiva nachweisen. Sie liegen auch hier vereinzelt, paarweise oder zu kurzen Ketten vereinigt und wachsen in Reinkultur wie diejenigen aus dem Blute.

Kaninchen haben nach Verimpfung von Reinkultur oder des Blutes von den Kranken stark gefiebert und gingen nach 10—14 Tagen, oft noch früher, zugrunde. Im Blute wie au

in den Organen der geimpften Tiere konnte Lewaschew die Mikrokokken nachweisen.

Und was die »Spirochaete exanthematica« anbelangt, der der Autor in den ersten Mitteilungen die wichtigste ätiologische Bedeutung zugeschrieben hat, so äufsert er sich hier über dieselbe schon entschieden dahin, dafs »diese wahrscheinlich nichts anderes als eine Entwicklungsstufe des Mikrokokkus ist«. Wie aber er sich die Entstehung dieser »Entwicklungsstoffe« vorstellt, darüber fehlt jede nähere Angabe.

Im Jahre 1895 teilte Afanasjew seine eigenartigen an 14 Flecktyphuskranken ausgeführten Versuche mit. Von seinen früheren, beim Typhus abdominalis gemachten Beobachtungen ausgehend, dafs nach subkutaner Injektion von reizenden Substanzen an der Injektionsstelle die Typhusbazillen sich anhäufen, hat er ähnliche Versuche an den Flecktyphuskranken ausgeführt. Die Versuche wurden in der Weise ausgeführt, dafs unter die vorher sterilisierte Haut in 5 proz. Karbollösung und nachher in Sodalösung ausgekochte Mullstückchen gebracht und an der mit Guttaperchatuch, welches in 1 : 1000 Sublimatlösung aufbewahrt war, bedeckten Operationsstelle ein Umschlag gemacht wurde.

Nach 24 Stunden wurden die Mullstückchen aus der Wunde herausgenommen und mikroskopisch wie auch bakteriologisch durch Anlegen von Kulturen auf Agar, Serum und Bouillon untersucht.

Die mikroskopische Untersuchung der mit Gentiana-Violett gefärbten Präparate ergab zwischen den Eiterkörperchen verschieden lange, gerade Stäbchen, von denen die kürzeren paarweise lagen. Diese Stäbchen wurden in sämtlichen 14 Fällen nachgewiesen.

Die Reinkultur der Stäbchen wurde in 12 Fällen erhalten: in Bouillon wuchsen die Stäbchen in 24 Stunden sehr reichlich; Milch wurde nicht koaguliert, im Zuckeragar haben sich in den Stichkulturen keine Blasen gebildet.

Die Mullstückchen wurden nach 24 Stunden aus der Wunde herausgenommen und dreimal durch frische ersetzt. In den zu-

letzt herausgenommenen Mullstückchen hat Afanasjew schon ausschliefslich die kurzen, paarweise liegenden Stäbchen gefunden, die sehr den Diplokokken ähnlich waren; auch das Wachstum dieser Stäbchen in Bouillon war ein viel spärlicheres und erinnerte mehr an dasjenige der Diplokokken.

Aufser diesen Stäbchen fand Afanasjew in einigen Fällen Mikrokokken beigemengt, die, seiner Meinung nach, da er eine Verunreinigung für ausgeschlossen hält, »innerer Herkunft« sein müssen. Nähere Angaben über diese »Mikrokokken« fehlen.

»Wir sehen — sagt zum Schlufs in seiner Mitteilung Afanasjew — dafs im Körper der Flecktyphuskranken in sämtlichen untersuchten Fällen sich dieselbe Bakterie befand, die als eine spezifische für den Unterleibtyphus betrachtet wird.«

Diese Angaben wurden im Jahre 1899 von Lewaschew an 17 Fällen nachgeprüft und als nicht zutreffende in Abrede gestellt.

Lewaschew meint, dafs bei einer derartigen Versuchsanordnung, wie sie Afanasjew benutzt hat, regelmäfsig eine Verunreinigung mit verschiedenen Bakterien zustande kommt.

Gleichzeitig berichtet hier Lewaschew über seine weiteren an 50 Fällen ausgeführten Untersuchungen.

»Bei jedem Flecktyphuskranken — sagt hier Lewaschew — kann man bei gewissen Vorsichtsmafsregeln die Anwesenheit besonderer, im höchsten Grade charakteristischer Keime ebenso durch die direkte mikroskopische Beobachtung des Blutes und der Conjunctivalflüssigkeit wie auch durch Anlegen aus diesen Körperflüssigkeiten von Reinkulturen konstatieren.«

Mikroskopisch müssen aber die erwähnten Körperflüssigkeiten bei einer Vergröfserung von 3000 mal untersucht werden.

Zur Gewinnung von Reinkulturen wird hier schon das Venenblut empfohlen, da beim Anlegen der Kulturen aus dem Finger- oder Milzblut viele der Kulturen steril bleiben.

Auch die Angaben über die Schnelligkeit und die Art des Wachstums der »Mikrokokken« sind abweichend von den früheren. Nach den letzten Angaben soll das Wachstum im Stich nicht nach 24 Stunden, sondern erst nach 2 bis 8 Tagen zustande kommen.

außerdem wurde das Wachstum nicht, wie früher, ausschließlich im Stich, sondern auch an der Oberfläche und gerade hier am intensivsten konstatiert.

Nicht übereinstimmend sind auch die letzten Angaben über das Aussehen der ausgewachsenen Kulturen. Die Kolonien sind nicht mehr sehr fein, grau-weiß und durchsichtig, sondern dick, schmutzig-grau-weiß und bekommen mit der Zeit einen intensiv gelben Schimmer.

Bei Zimmertemperatur und in Bouillon findet in den ersten Generationen meist kein Wachstum statt; wird aber durch die Bouillon, nach dem Anlegen von Kulturen, ein Strom von Sauerstoff durchgeleitet, dann wird sie nach 24 Stunden, bei 36—38° gehalten, ganz trübe, aber nach weiteren 24—48 Stunden wird aus der Bouillon ein flockiger Niederschlag ausgeschieden, der sich auf den Boden des Reagenzglases absetzt, und die Bouillon wird wieder klar.

Die Mikrokokken färben sich nach Gram, sind aber nicht immer gramfest.

Aus der Conjunctivalflüssigkeit gelingt es viel regelmäßiger und schneller die Reinkultur zu gewinnen, auch das Wachstum ist hier ein reichlicheres, aber die genauere Nachforschung hat ergeben, daß in diesen Kulturen außer den Mikrokokken verschiedene andere Keime vorhanden sind.

»Die Züchtung der Mikrokokken ist überhaupt sehr schwer, meist ganz unmöglich.«

»Die Tatsache — sagt zum Schluß Lewaschew — daß der Mikrokokkus im Blute der Flecktyphuskranken gefunden wird, und die bemerkbare übereinstimmende Wechselbeziehung zwischen der Periode und der Schwere der Krankheit einerseits und der Zahl und Lebensfähigkeit der beim Kranken zum Vorschein kommenden Mikrokokken anderseits, können nur durch die Annahme erklärt werden, daß der Mikrokokkus der Erreger des Flecktyphus ist, und deshalb Micrococcus exanthematicus genannt werden muß.«

Aber schon einige Zeilen weiter fügt Lewaschew noch hinzu, daß er in den gefärbten Präparaten aus den 1—3 Tagen alten

Kulturen, die aus dem Blute angelegt waren, aufser den Mikrokokken sehr oft noch grofse, runde Körper beobachtet hat, die an rote Blutkörperchen erinnern und häufig in ihrem Zentrum einen dunklen Punkt, der einem Kern ähnlich ist, haben.

Besonders reichlich kamen diese Körper, die Lewaschew aus unerklärt gebliebenen Gründen als Protozoen betrachtet, in denjenigen Kulturen zum Vorschein, in denen die Mikrokokken kein Wachstum gaben, woraus Lewaschew den Schlufs zieht, dafs diese Körper in den übrigen Kulturen von den Mikrokokken überwuchert und verdrängt werden.

»Zur Entscheidung der Frage — meint Lewaschew — ob diese Körper eine harmlose Beimengung zum Blute darstellen, ob sie parallel mit dem Mikrokokkus an der Erzeugung des Flecktyphus beteiligt sind und deshalb als Krankheitserreger anerkannt werden müssen, sind weitere Untersuchungen nötig, mit denen ich zurzeit beschäftigt bin.«

Bis jetzt sind diese weiteren entscheidenden Untersuchungen, soweit ich die russische und ausländische Literatur verfolgen konnte, noch nicht mitgeteilt worden.

Und was endlich die spirillenartigen Sprossen und Schwänze an den Mikrokokken anbelangt, die zuerst von Thoinot und Calmette beschrieben wurden, und die Lewaschew in seinen ersten Mitteilungen »Mikrokokken-Spirillen« nannte und für den Flecktyphus als pathognomisch bezeichnete, in der dritten Mitteilung aber als eine Entwicklungsstufe des Mikrokokkus bezeichnete, die selbst bei einer Vergröfserung von 3000mal nicht wahrgenommen werden kann, so behauptet er in seiner letzten Mitteilung wiederum, dafs diese geschwänzten Mikrokokken eine besondere Form darstellen, die regelmäfsig neben den schwanzlosen in den Reinkulturen wie auch in den frischen Blutpräparaten zum Vorschein kommt.

Kurz nach der letzten Mitteilung von Lewaschew hat Benjasch in demselben Jahre seine auf 118 Fälle sich beziehenden Untersuchungen mitgeteilt.

In seinen Untersuchungen hat Benjasch das Blut aus schliefslich aus einer Fingerkuppe entnommen und konnte i

nativen Blutpräparate bei einer Vergröfserung von 950 mal sämtliche Gebilde beobachten, die Lewaschew erst bei 2000facher Vergröfserung wahrnehmen konnte. Er sah auch die Kugelchen vereinzelt, paarweise oder in kurze Ketten und kleine Haufen vereinigt zerstreut und in intensiver Bewegung.

Bei längerer Beobachtung unter dem Mikroskop will der Autor die Teilung der Kugelchen direkt wahrgenommen haben. Die Teilung soll in der Weise vor sich gegangen sein, dafs die Kugelchen sich zuerst ausgezogen und nachher in zwei Hälften geteilt haben. Dabei haben sich die intensiv beweglichen Kugelchen nach der Teilung nicht gleich getrennt, sondern setzten ihre intensiven Kreis- und Vorwärtsbewegungen als Diplokokken fort.

Auch die Kugelchen mit Sprossen und Anschwellungen an den letzteren, wie auch Fäden mit zahlreichen unregelmäfsigen Anschwellungen, rosenkranzförmige und solche, die mit je einem Kugelchen, oft von evoider oder unregelmäfsiger Form, auf jedem Ende versehen waren, hat der Autor beobachtet.

Benjasch hat in ähnlicher Weise wie Lewaschew die Beobachtung gemacht, dafs die Zahl der erwähnten Gebilde um so gröfser war, je später im Anfalle das Blut von Kranken entnommen wurde, und nach der Krisis verschwanden sie aus dem Blute.

Auf Grund der letzterwähnten Tatsache ist Benjasch, in ganz gleicher Weise wie Lewaschew, zum Schlufs gekommen, dafs zwischen den erwähnten Gebilden und dem Flecktyphus ein enger Zusammenhang sein mufs.

Die geschwänzten Formen hat Benjasch auch übereinstimmend mit Lewaschew in ca. 1/5 der Fälle beobachtet.

Nie konnte Benjasch die geschwänzten Formen im Anfange des Anfalles beobachten, er fügt aber hinzu, dafs auch diese Formen ohne Zweifel regelmäfsig gefunden werden könnten, wenn das Blut der Kranken täglich untersucht wäre.

Die Entstehungsart dieser Fäden oder Schwänze ist nach Benjasch eine folgende: Nach der Teilung des Kokkus bleiben die Tochterkokken miteinander mit einem Faden verbunden,

der sich allmählich ausdehnt; wird aber die Dehnung des Fadens zu stark, dann reifst er, und es entstehen in dieser Weise die geschwänzten Kokken. Diesen eigentümlichen Teilungsprozefs will Benjasch auch direkt beobachtet haben.

Hat er aber die Blutpräparate nach der weiter oben erwähnten Vorschrift von Lubimow gefärbt, so konnte er feststellen, dafs die meisten »Kügelchen« ausgezogen waren und einen mehr oder weniger breiten Spalt hatten, der sich viel schwächer, in ähnlicher Weise wie die Bakterienkapseln, gefärbt hat.

Aus dieser Beobachtung zieht Benjasch weiterhin den Schlufs, dafs die Kügelchen in einer Kapsel liegen, die nach der Teilung der ersteren zu einem dünnen Faden ausgezogen wird, und die Fäden oder Sprossen werden deshalb nicht durch das Protoplasma der Kokken gebildet, wie Lewaschew meint, sondern durch die Kapsel, und deshalb sind die Fäden keine »Spirillen«, wie sie Lewaschew nannte, sondern »Geifseln«.

Auf Grund dessen behauptet Benjasch, dafs »alle Kokken, die im Blute beim Flecktyphus zum Vorschein kommen, mit Geifseln versehen sind.«

Was die Kulturversuche anbelangt, so erwähnt der Autor nur kurz, dafs zuerst, als er die Fingerkuppen, aus denen das Blut entnommen wurde, gründlich desinfiziert hat, dieselben ohne Erfolg blieben, woran die desinfizierenden Mittel die Schuld haben müssen.

Hat er aber die Finger einfach mit kochendem Wasser »gereinigt«, dann gelang ihm die Reinkultur zu gewinnen »aber nur selten«. Die mikroskopische Untersuchung ergab eine Reinkultur von Kokken, und in den gefärbten Präparaten kamen auch die erwähnten »ausgezogenen Kokken mit ungefärbtem Spalt« zum Vorschein.

Die Tierversuche fielen negativ aus.

»Man kann kaum daran zweifeln — sagt am Schlusse seiner Mitteilung Benjasch —, dafs die von mir im Blute der Fleck-

typhuskranken beobachteten Gebilde als Mikroben betrachtet werden müssen und dabei als spezifische für den Flecktyphus«.

Endlich bleibt noch zu erwähnen, dafs in der neuesten Zeit Goltschlich den Typhus exanthematicus als eine dem Texasfieber verwandte Protozoenkrankheit auffand.

Diese seine Behauptung fufst Goltschlich auf 6 von ihm in Ägypten untersuchten Fällen, bei denen er einen dem Pyrosoma bigeminum ähnlichen intrakapsularen Parasiten beobachtet haben will.

Warum eigentlich die vom Autor in den erwähnten 6 Fällen gefunden und als Parasiten bezeichnete Gebilde die Erreger des Flecktyphus sein sollen, ist nicht genügend aufgeklärt worden.

Wenn wir zum Schlufs der vorausgegangenen Schilderung die Ergebnisse der erwähnten Untersuchungen kurz zusammenfassen, so sehen wir, dafs sehr verschiedene Keime und Gebilde als die spezifischen Flecktyphuserreger gedeutet worden sind.

Hallier, Lewaschew, Lubimow und Matschinsky haben einen Mikrokokkus als den Flecktyphuserreger bezeichnet. Babes, Thoinot und Calmette, Lewaschew und Benjasch schreiben einem geschwänzten Kokkus die ätiologische Bedeutung für den Flecktyphus zu, dabei sind aber die Ansichten der Autoren über den Charakter dieses Gebildes sehr verschieden. Babes, Lewaschew und Benjasch halten es für ein Bakterium, dagegen betrachten es Thoinot und Calmette als ein Protozoen.

Und wenn Lewaschew der Meinung ist, dafs die Schwänze Protoplasmafortsätze der Kokken sind, so behauptet Benjasch, dafs dieselben bei der Teilung der Kokken aus den »Kapseln« der letzteren entstehen.

Mott und nachher Lewaschew und Calmette haben auch Spirillen in den Flecktyphuskranken gefunden und diese als spezifische Erreger betrachtet, dabei läfst Calmette diese Spirillen im Blute aus Hefepilzen entstehen.

Dubief und Brühl, Curtis und Combemal und Balfour und Porter haben Diplokokken bei den Flecktyphuskranken regelmäfsig finden können; die letzteren Autoren wollen

aber in 40 unter 46 Fällen von Abdominaltyphus dieselben Diplokokken nachgewiesen haben.

Moreau und Cochez, Cheesmann, Hlava und Afanassjew haben dagegen Stäbchen als die Erreger des Flecktyphus bezeichnet, aber die von den verschiedenen Autoren beschriebenen Stäbchen unterscheiden sich wesentlich voneinander.

Moreau und Cochez haben ein Stäbchen mit abgerundeten Enden beschrieben, welches länger und dicker als der Tuberkelbazillus sein soll, Cheesmann ein ähnliches Stäbchen mit abgerundeten Enden, aber ein ganz kurzes, Hlava dagegen einen Streptobazillus und endlich Afanassjew beschrieb ein Stäbchen, welches seinen morphologischen und biologischen Eigenschaften nach mit dem Eberthschen Bazillus ganz identisch sein soll.

Theinot und Calmette, Lewaschew und Goltschlich haben den Flecktypus als eine Protozoenkrankheit betrachtet, aber jeder von diesen Autoren hat ein ganz anderes Gebilde als den wahrscheinlichen Flecktyphuserreger beschrieben.

Wenn endlich einige Autoren, wie Weinschal, Ruta, und Weeney, überhaupt keine Keime im Blute der Flecktyphuskranken finden konnten, so glaubt Lewaschew deren mehrere »entdecken« zu müssen, was daraus zu entnehmen ist, daſs er gleichzeitig einen »Mikrokokkus«, eine »Spirille«, eine »Kokko-Spirille oder einen Spirochäten-Mikrokokkus« und endlich ein »Protozoen« als die spezifischen Flecktyphuserreger betrachtet hat.

Den letzten »Erreger« hat Lewaschew übrigens »vorübergehend für jeden Fall« erwähnt, »da es möglich ist, daſs auch der Flecktyphus durch ein ähnliches Protozoen erzeugt wird, wie sie Löwit bei der Leukämie beschrieben hat«.

Diese Buntheit in den Ergebnissen der Untersuchungen der verschiedenen Autoren wird aber nicht befremden können, wenn man die Untersuchungsart dieser Autoren miteinander vergleichen wird.

Die gröſste Zahl der Autoren fuſste ihre weitgehenden Schlüsse auf Untersuchungen, die auf vereinzelnte Fälle sich bezogen

haben; und wenn die einen Autoren ausschliefslich die nativen Blutpräparate beobachtet haben, so begnügten sich die anderen mit der Untersuchung derselben im gefärbten Zustande; dabei haben aber die einen das Blut intra vitam, die anderen post mortem zur Untersuchung entnommen, und nicht immer waren die Autoren selbst daran fest überzeugt, dafs in den betreffenden Fällen es sich um Flecktyphus gehandelt hat.

Mehrere Autoren haben durch die Blutuntersuchung und das Anlegen von Kulturen aus demselben nichts feststellen können, dann haben sie sich zu den Kulturversuchen aus den Exkreten und Leichenorganen oder sogar des pneumonischen Saftes, wie es Dubief und Bruhl getan haben, gewendet. Und dafs bei einer derartigen Untersuchungsart verschiedene Keime gefunden wurden, wird wohl niemanden wundernehmen.

Aus allen diesen Erwägungen ausgehend, könnte man nur die Untersuchungen von Lewaschew und Benjasch, die sich auf eine grofse Zahl intra vitam untersuchter Fälle von sicherem Flecktyphus beziehen, als mehr zuverlässig betrachten.

Aber auch diese beiden Untersuchungen können absolut keinen positiven Wert haben, und zwar aus folgenden Gründen: Lewaschew, der die gröfste Zahl der Fälle untersucht hat und zur Untersuchung zuletzt ausschliefslich das Venenblut benutzte, hat gleichzeitig die erwähnten vier ganz verschiedenen Keime in demselben gefunden und sämtliche als spezifische Erreger betrachtet.

Aufserdem sind die Angaben Lewaschews in seinen vier, im Laufe von 7 Jahren gemachten Mitteilungen derart voneinander abweichend und widersprechend, dafs man in Verlegenheit kommt, wenn entschieden werden soll, was zu den Tatsachen und was ins Bereich der Poesie gehört.

Berücksichtigt mufs auch werden, dafs Lewaschew 3000fache Vergröfserungen benutzt hat.

Und was die Untersuchungen von Benjasch betrifft, so haben sich diese, wenn man von den »nur selten gelungenen« Kulturen, die mit dem Blute aus mit gekochtem Wasser »gereinigten« Finger angelegt waren, abzieht, hauptsächlich mit der Untersuchung der nativen Blutpräparate befafst.

Und aus der Schilderung seiner Beobachtungen ist, meiner Ansicht nach, nicht zu ersehen, warum eigentlich der Autor die von ihm wahrgenommenen Gebilde für »ausgezogene in Teilung sich befindende Kokken« hält, wenn es viel einfacher und zutreffender wäre, dieselben als Stäbchen zu betrachten, die den Pest- oder Pseudodiphtheriebazillen ähnlich sind.

Dafs die weitschweifige Auseinandersetzung Benjaschs über die Teilungsart der »Kokken«, bei der eine »Ausdehnung der Kapsel« und die »Bildung von Geifseln« erfolgen soll, ins Bereich der Phantasie gehört, das braucht wohl keiner weiteren Auseinandersetzung.

Aber trotz alledem, wenn man die Schilderung der Beobachtungen von den einzelnen Autoren aufmerksam verfolgt, so kann man doch in den meisten von ihnen etwas Übereinstimmendes finden, und das ist die Tatsache, dafs die meisten Autoren bei ihren Untersuchungen kurze, paarweise liegende Gebilde, die durch einen Spalt voneinander getrennt waren, wahrgenommen haben.

Aus diesem Grunde beeilte ich mich, die Gelegenheit auszunutzen, die mir die seit $1\frac{1}{2}$ Jahren wütende und jetzt erloschene Flecktyphus-Epidemie in Kiew geboten hat, um mich mit der Frage über die Ätiologie des Flecktyphus zu beschäftigen.

Eigene Untersuchungen.

In Anbetracht der Fülle von »spezifischen Erregern«, die im Blute der Flecktyphuskranken wiederholt gefunden worden sind, schien mir für zweckmäfsig, zuerst die Aufmerksamkeit auf die Organe der Verstorbenen zu lenken.

Denn, wenn der Erreger in der Tat im Blute der Kranken kreist, so mufs es auch, wie ich mich bei meinen Untersuchungen der Organe von an Febris recurrens Verstorbenen überzeugt habe[1], regelmäfsig während des Krankheitsanfalles auch in den Organen vorhanden sein.

1) Münchener med. Wochenschrift 1908, Nr. 20, und Virchows Archiv, Bd. 194, Beiheft.

1. Mikroskopische Untersuchung der Organe.

Die wichtigste Aufgabe bei diesen Untersuchungen bestand darin, eine Methode zu finden, durch die die Keime, wenn sie in den Organen vorhanden sind, in den Schnitten durch dieselben nachgewiesen werden konnten.

Bei meinen erwähnten Untersuchungen über die Febris recurrens habe ich, hauptsächlich an den Schnitten durch die Lungen, die Beobachtung gemacht, daſs durch die Silberimprägnation nicht nur die Spirillen, sondern auch andere Bakterien vorzüglich in den Organen nachweisbar sind, und deshalb habe ich zuerst die Organteile von an Flecktyphus Verstorbenen einer Silberimprägnation unterzogen.

In den Schnitten der ersten in dieser Weise untersuchten Fälle habe ich zahlreiche und verschiedenartige Bakterien gefunden.

Die Verschiedenartigkeit der nachgewiesenen Bakterien legte den Gedanken nahe, daſs die Organe intra vitam oder post mortem verunreinigt worden sind. Die spätere Nachforschung hat in der Tat ergeben, daſs in dem einen Falle intra vitam ein groſser Dekubitus, in dem anderen eine Parotitis und darauf folgende Phlegmone vorhanden waren.

Auſserdem kam es im letzteren Fall erst ca. 40 Stunden post mortem zur Sektion.

Nach Feststellung dieser Tatsachen, habe ich schon ausschliefslich solche Fälle zur Untersuchung gewählt, die ohne jede Komplikation an allgemeiner Intoxikation und Kollaps zugrunde gingen und die nicht später als 24 Stunden nach dem Tode seziert wurden.

In diesen Fällen konnte ich regelmäſsig in der Milz, den Nieren, Blutgefäſsen und Hautpetechien (hämorrhagischer Natur), seltener in der Leber, dem Pankreas, Herzfleisch, Knochenmark und anderen Organen kurze, etwas plumpe Stäbchen, mit abgerundeten Enden nachweisen, die meist paarweise liegen.

In den Schnitten durch die Hautpetechien, seltener in der Milz, kamen auch von denselben Stäbchen ganz ausgefüllte Gefäſse zum Vorschein.

Am zahlreichsten kommen die Stäbchen in der Milz und in den Nieren zum Vorschein; in der Milz sind sie aber viel schwerer für den Ungeübten zu unterscheiden, weil sie hier mit den Zerfallsprodukten der zelligen Elemente, die in grofsen Mengen beim Flecktyphus in der Milz vorhanden sind, verwechselt werden können.

Der Geübte wird aber auch in diesen Präparaten die Bakterien nach ihren scharfbegrenzten Konturen, nach dem gelblich-bräunlichen Farbenton und stärkerem Lichtbrechungsvermögen beim Schraubenspielen von den Zelltrümmern und den formlosen schwarzen Niederschlägen unterscheiden können.

Damit aber die Stäbchen auch für den Ungeübten ganz deutlich werden, müssen die Präparate mit Schwefelammonium in der von mir an anderer Stelle beschriebenen Weise differenziert werden.[1])

In den differenzierten Schnitten treten zwischen den Parenchymzellen liegende, wie auch in denselben eingeschlossene Stäbchen klar zu Tage, und besonders klare und überzeugende Bilder werden dabei von den Schnitten durch die Hautpetechien, Nieren, Knochenmark und Blutgefäfsen geliefert.

Die Stäbchen, die vereinzelt in den Schnitten zerstreut liegen, sind zwar plump, aber doch deutliche Stäbchen; dagegen sehen die paarweise liegenden noch kürzer aus und scheinen mehr den Gonokokken ähnlich zu sein.

Häufig kann man ganze Reihen wie auch Haufen von denselben Stäbchen wahrnehmen.

Trotz allen diesen überzeugenden Bildern hielt ich es aber für notwendig, um jede Möglichkeit einer postmortalen Verunreinigung ausschliefsen zu können, in ähnlicher Weise Fälle zu untersuchen, die ohne jede Komplikation zugrunde gingen und in denen ich einige Stunden nach dem Tode sezieren konnte.

Dank dem, dafs viele von den Kranken des Alexander-Krankenhauses Heimatlose sind, hatte ich auch sehr bald die Möglichkeit, in zwei Fällen kurz nach dem Tode zu sezieren.

1) Virchows Archiv, Bd. 194, Beiheft S. 124.

Der erste Fall war ein kräftiger 30 jähriger Mann, der am sechsten Krankheitstage bei einer Temperatur von 39,8° C an Kollaps zugrunde ging und 6 Stunden post mortem seziert wurde.

Im zweiten Fall starb eine 31 jährige Frau im bewufstlosem Zustande an allgemeiner Intoxikation bei einer Temperatur von 39,2° C zugrunde und wurde nach 7 Stunden seziert.

Bei der Sektion wurde in beiden Fällen aufser einer parenchymatösen Degeneration der Nieren, der Leber und des Herzfleisches und einer vergröfserten welken Milz nichts Besonderes gefunden.

Die mikroskopische Untersuchung der einer Silberimprägnation unterzogenen Organe ergab dieselben eben beschriebenen Stäbchen.

Nicht weniger überzeugend waren zwei andere Fälle. Bei einem 28 Jahre alten kräftigen Mann, der am 22. Krankheitstage bei einer Temperatur von 41° C zugrunde ging, habe ich durch die Silberimprägnation in den Organen aufser den erwähnten Stäbchen zahlreiche Mikrokokken nachweisen können, die besonders zahlreich in der Milz und den Nieren vorhanden waren.

Als ich der Krankengeschichte dieses Mannes nachgeforscht hatte, konnte ich in derselben nur die Bemerkung finden, dafs der Kranke vier Tage vor dem Tode, als die Temperatur schon im Abnehmen war, mit Pockenlymphe geimpft wurde, wie es im Alexander-Krankenhause mit jedem Kranken geschieht, der in die Infektions-Baracke aufgenommen wird.

Dasselbe hat sich auch in dem zweiten Fall — einer 36 Jahre alten Frau —, die am 17. Krankheitstage bei einer Temperatur von 40° einen Tag nach der Pockenimpfung zugrunde ging, wiederholt.

Das Erscheinen der Mikrokokken in den Organen neben den Stäbchen nur in diesen beiden Fällen, die kurz vor dem Tode mit der Pockenlymphe geimpft waren[1]), zwangen diese beiden Tatsachen in einen engen Zusammenhang miteinander zu bringen.

---

1) Es mufs erwähnt werden, dafs zahlreiche Flecktyphuskranke die Pockenimpfung gut vertragen haben.

Als ich nachträglich die Organe und die Haut einer 18 jährigen Frau, die an Variola vera verstorben ist, nach der Silberimprägnation untersucht habe, konnte ich in diesen dieselben Mikrokokken finden, es fehlten aber in diesem Fall die Stäbchen[1].

Ohne irgendwelche Schlüsse auf die Natur und Wirkung der gefundenen Mikrokokken aus den festgestellten Befunden zu ziehen, glaubte ich doch auf Grund der festgestellten Tatsachen annehmen zu dürfen, dafs die Stäbchen, die ich regelmäfsig in den Organen der Flecktyphuskranken nachweisen konnte, mit dem Flecktyphus, die Mikrokokken in den erwähnten zwei Fällen mit der Pockenimpfung und die anderen Bakterien, die ich in einigen Fällen gefunden habe, mit Komplikationen und Mischinfektion oder postmortalen Erscheinungen in irgendeinem Zusammenhang stehen.

Zu bemerken ist aber, dafs von den 30 Sektionsfällen, aufser den erwähnten, noch 14 zur Untersuchung ausgewählt wurden, bei denen der Tod gleich im Beginn der Krankheit erfolgte; die übrigen Fälle sind für eine spätere Untersuchung konserviert worden.

Nachträglich, nachdem mir aus den gewonnenen Reinkulturen bekannt wurde, dafs die Stäbchen gramfest sind, habe ich auch durch die Gramsche Färbung die Stäbchen in den Organen nachweisen können.

2. Blutuntersuchungen.

Nachdem ich also auf Grund der erwähnten mikroskopischen Untersuchungen der Schnitte durch die verschiedenen Organteile annehmen zu dürfen glaubte, dafs im Blute der Flecktyphuskranken wenigstens während des Krankheitsanfalles regelmäfsig ein bestimmtes Stäbchen kreist, habe ich mich der Blutuntersuchung zugewendet.

Zuerst untersuchte ich das Blut der Kranken im frischen Zustande. Die Präparate wurden in der Weise hergestellt, dafs aus den mit Seifenspiritus, Sublimat, Alkohol und Äther

1) In diesem Falle wurde 4 Stunden nach dem Tode seziert.

gereinigten Fingerkuppen oder Ohrläppchen ein mittelgrofser Blutstropfen auf die Mitte eines Deckgläschens aufgefangen und durch leichten Druck zwischen dem letzteren und einem geputzten Objektträger zu einer gleichmäfsigen Schicht ausgebreitet, die aus den Rändern des Deckgläschens etwas hervortreten soll.

Wird die Gröfse des Blutstropfens richtig gewählt, dann gelingt es sehr leicht; das Blut gerinnt an den Rändern des Deckgläschens, und es entsteht in dieser Weise eine primitive feuchte Kammer, in der das Blut länger als sonst ungeronnen bleibt.

In diesen Präparaten sieht man im Mikroskop (Zeifs $^1/_{12}$ Öl-Immers. mit Ocul. 2) zwischen den Blutkörperchen zahlreiche stark lichtbrechende runde Körnchen, die in intensiver Molekularbewegung sich befinden.

Die meisten Kügelchen liegen vereinzelt, wiederholt kommen aber auch zwei und mehrere vereinigt zum Vorschein.

Ähnliche Kügelchen kann man auch in den weifsen Blutkörperchen wahrnehmen, unter denen einige mit den Kügelchen vollgestopft sind.

Die Zahl der Kügelchen ist in den Präparaten um so gröfser, je später im Anfalle das Blut von den Kranken entnommen wird.

Aufser den Kügelchen sieht man zahlreiche, oft zu ganzen Haufen vereinigte und den gröfsten Teil des Gesichtsfeldes einnehmende und in molekularer Bewegung sich befindliche Körper von scheinbar verschiedener Gröfse und unregelmäfsiger Form.

Setzt man die Beobachtung längere Zeit fort, dann kommen auch verschiedene Fäden zum Vorschein, deren Zahl immer gröfser wird.

An diesen Fäden bleiben die erwähnten Kügelchen, deren Bewegung allmählich langsamer wird und endlich ganz aufhört, haften, und man bekommt, je nach der Zahl der haften bleibenden Körnchen, diejenigen verschiedenen Bilder, die von zahlreichen oben erwähnten Autoren beobachtet und beschrieben worden sind.

Die Fäden kamen viel schneller zum Vorschein, wenn ich zur Herstellung der nativen Blutpräparate, nach der An-

gabe von Lewaschew, ganz kleine Blutstropfen genommen habe, die nach der Ausbreitung nur ein Teil des Deckgläschens einnahmen.

Alle diese Gebilde sind, wie bekannt, schon längst von Obermeier, Engel, Heydenreich, Guttmann, Albrecht, Weigert, Naunyn, Litten u. a. im Blute der Rekurrenskranken ebenfalls kurz vor der Krisis beobachtet und ausführlich beschrieben worden.

Die einen Autoren haben diese Gebilde als Zerfallsprodukte der Spirillen, die andern als diejenigen der Blutkörperchen, die übrigen, mit unter diesen besonders Guttmann und Albrecht, haben sie als die Dauerformen der Spirillen betrachtet.

Bei meinen zahlreichen Blutuntersuchungen bei der Rekurrens habe ich auch dieselben Gebilde beobachtet, konnte aber bei den direkten Beobachtungen der Blutpräparate unter dem Mikroskop, wie auch in den Versuchen in vitro, feststellen, dafs die Spirillen vor der Krisis in Serum in der Tat zuerst zu rosenkranzähnlichen Gebilden sich verändern und dann in einzelne Kügelchen zerfallen, die endlich zu formlosen Konglomeraten sich vereinigen und ganz aufgelöst werden.[1])

Auch das konnte ich feststellen, dafs die gröfste Zahl der erwähnten Kügelchen im Blute aus den zerfallenen weifsen Blutkörperchen stammte.

Dieselben Kügelchen wurden auch wiederholt bei verschiedenen anderen Krankheiten, wie auch selbst im normalen Blute, beobachtet und beschrieben.

Was die erwähnten Fäden anbelangt, so können sie in jedem nativen Blutpräparate beobachtet werden und sind nichts anderes als die Produkte der Fibrinausscheidung.

Und dafs die erwähnten zahlreichen stark lichtbrechenden Körper von unregelmäfsiger Form, die auch seit Obermeier wiederholt im Rekurrensblute beobachtet und als »Plasmakörper« oder »Protozoen« bezeichnet wurden, nichts anderes als Blut-

---

1) Diese Untersuchungen werden im »Virchows Archiv«, Bd. 198, mitgeteilt.

plättchen sind, dafür haben die weiter zu schildernden gefärbten Präparate den Beweis geliefert.

Irgendwelche Bakterien im nativen Blutpräparate wahrzunehmen, ist mir wegen der Menge von verschiedenen erwähnten geformten Elementen mit Sicherheit nie gelungen.

Die Bakterien, wie auch die Natur der übrigen Bestandteile des Blutes, traten aber sehr deutlich in den mit Giemsa-Färbung behandelten Blutpräparaten zutage.

Zuerst habe ich versucht, die Präparate nach der Vorschrift von Lubimow mit Karborfuchsin unter Erwärmen zu färben und nachher mit Alkohol zu entfärben.

Nach dieser Methode ist mir nie gelungen, ganz saubere und klare Bilder zu erhalten. Immer war in den Präparaten eine Menge verschiedener Niederschläge und besonders viel ganz runde Kügelchen von verschiedener Größe. Einige der Kügelchen erreichten die Größe eines weißen Blutkörperchens und hatten in der Mitte einen dunklen Punkt, und es kamen also Gebilde zum Vorschein, die Lewaschew beobachtet und als »Protozoen« gedeutet hat.

Aber dieselben »Protozoen« kamen regelmäßig auch in ähnlicher Weise behandelten Blutpräparaten von gesunden Menschen zum Vorschein, und besonders groß war die Zahl derselben in den Blutpräparaten, die nach Gram gefärbt wurden. Bakterien kamen in diesen Präparaten nicht zum Vorschein. Aus diesem Grunde habe ich diese Färbungsmethode aufgegeben und mich zur Giemsa-Farbe gewendet.

Zur Färbung der lufttrocken gewordenen und mit 95% Methylalkohol fixierten Blutpräparate wurde jedes Mal eine ganz frische Verdünnung der Giemsa-Farbe (2 Tropfen auf je 1 ccm destilliertes Wasser) hergestellt und 3/4 Stunden gefärbt. Damit aber die Präparate nicht verunreinigt werden, wurden sie unter eine Glasglocke gehalten.

In den Präparaten, die in dieser Weise gefärbt waren, konnte ich dieselben Stäbchen wahrnehmen, die ich vorher in den Organschnitten durch die Silberimprägnation nachgewiesen habe.

Das Aussehen der Stäbchen in den nach Giemsa gefärbten Blutpräparaten ist aber ein etwas abweichenderes von denjenigen in den Organschnitten: sie sind etwas zarter und länger und zeigen bei intensiv blau gefärbten Enden in der Mitte eine schwach gefärbte oder ganz ungefärbte Zone oder einen »Spalt«.

In einigen Stäbchen wurden überhaupt nur an den Polen runde Körnchen intensiv blau gefärbt und die Konturen des Stäbchens waren nur schwach angedeutet, so dafs ein Bild zum Vorschein kam, welches an eine Kapselbakterie erinnerte.

Meist lagen die Stäbchen paarweise mit dem längeren Durchmesser aneinander angeschmiegt; oft kamen mehrere nebeneinander liegende oder unregelmäfsig zerstreute Paare, wie auch vereinzelte Stäbchen zum Vorschein.

Haben die zu zwei liegenden Stäbchen den erwähnten helleren »Spalt« in der Mitte, dann kommen Bilder zum Vorschein, die an Sarcinen erinnern.

Die Zahl der im Blutpräparate zum Vorschein kommenden Stäbchen ist eine sehr wechselnde, aber im allgemeinen eine spärliche.

Oft konnte ich nach stundenlangem Mustern der Präparate überhaupt nichts oder nur vereinzelte Stäbchen finden, ein anderes Mal oder sogar im zweiten gleichzeitig angefertigten Präparate aus demselben Fall konnte ich schon im ersten Gesichtsfelde mehrere Stäbchen finden.

Einen irgendwelchen Zusammenhang zwischen der Krankheitsphase und der Zahl der im Blute zum Vorschein kommenden Stäbchen konnte ich bis jetzt mit Sicherheit nicht feststellen.

Ich habe aber, um dieser Frage näher zu treten, von mehreren Fällen alle 4 Stunden (tags- und nachtsüber) im Laufe des ganzen Krankheitsanfalles Blut entnommen und die Aufstriche für eine spätere Untersuchung aufgehoben.

Im ganzen habe ich in 58 Fällen das Blut untersucht und konnte, wenn auch nicht in jedem Blutaufstriche, so doch in jedem Falle, ohne Ausnahme dieselben Stäbchen nachweisen.

In der gröfsten Zahl der Fälle habe ich das Blut in der erwähnten Weise aus einer Fingerkuppe oder einem Ohrläppchen entnommen.

Um aber mit Sicherheit jede Möglichkeit einer Verunreinigung ausschlieſsen zu können, wurde zur Herstellung der Präparate das Blut mit einer Spritze aus einer Armvene entnommen. Auch in diesen Präparaten kamen dieselben Stäbchen zum Vorschein.

Auſserdem habe ich das steril entnommene Venenblut in sterilen Reagenzgläsern aufgehoben, gerinnen lassen und das Gerinnsel wie auch das ausgeschiedene Serum einer Untersuchung unterzogen.

Das Gerinnsel wurde in mehrere Stückchen zerlegt, von denen einige einer Härtung und Silberimprägnation, die übrigen einer gewöhnlichen Konservierung mit Formalin und steigendem Alkohol unterzogen wurden.

In beiden Fällen, in Schnitten durch die Gerinnsel, die einen Silberimprägnation unterzogen wurden, wie auch in den Schnitten durch die übrigen Gerinnsel, die nach Gram gefärbt wurden, kamen dieselben meist paarweise liegenden Stäbchen zum Vorschein.

Das abgesetzte Serum wurde in sterilen Gläschen zentrifugiert, und aus dem Bodensatz wurden auf Objektträgern Ausstriche gemacht und nach Giemsa gefärbt.

In diesen Ausstrichen kamen auch dieselben Stäbchen zum Vorschein, aber in viel gröſserer Zahl, als sie in den Blutausstrichen gefunden werden.

In einigen Präparaten konnte stellenweise beinahe eine Reinkultur von den Stäbchen beobachtet werden, und die Blutkörperchen, die sich beim Zentrifugieren auf den Boden gesetzt haben und im Ausstriche zum Vorschein kamen, waren von den zahlreichen Stäbchen oft ganz bedeckt.

Bemerkenswert ist dabei die Tatsache, daſs die Stäbchen in den Ausstrichen aus dem Bodensatze des zentrifugierten Serums anders ausgesehen haben als die Stäbchen in den Schnitten durch die gehärteten Gerinnsel aus derselben Blutprobe.

In den Schnitten durch die Blutgerinsel, die einer Silberimprägnation unterzogen wurden, wie auch in denjenigen, die nach Gram gefärbt wurden, kamen die Stäbchen beinahe ausschlieſslich paarweise zum Vorschein, sie waren kürzer und

plumper, sahen ganz homogen gefärbt aus und erinnerten sehr an Gonokokken.

Dagegen waren die Stäbchen in den Ausstrichen aus dem Bodensatze des Serums, die nach Giemsa gefärbt wurden, länger und zarter, hatten in der Mitte eine hellere Zone, so dafs man auf den ersten Blick sie für Kokken annehmen konnte, und sie waren ganz unregelmäfsig haufenweise oder vereinzelt zerstreut.

Diese Unterschiede im Aussehen der Stäbchen im Serum und in den Gerinnseln derselben Blutprobe müssen, meiner Ansicht nach, auf die Verschiedenheit der vorausgegangenen Behandlung zurückgeführt werden.

Was endlich die übrigen Bestandteile des Blutes anbelangt, so kann ihre Natur besonders klar durch die Giemsa-Färbung aufgeklärt werden.

Die Fäden, die von einigen Autoren als Spirillen bezeichnet wurden, kamen in keinem einzigen der zahlreichen gefärbten Präparate zum Vorschein, obgleich sie im nativen Blutpräparate vorhanden waren, woraus man wohl schliefsen kann, dafs es Fibrinfäden sind.

Und was die Kügelchen oder »Mikrokokken«, wie sie von zahlreichen Autoren genannt worden sind anbelangt, so kommen in den nach Giemsa gefärbten Präparaten, und besonders in denjenigen, die aus der späteren Periode des Krankeitsanfalles stammen, sehr zahlreiche intensiv blau wie auch rot gefärbte Kügelchen zum Vorschein.

Diese Kügelchen können vereinzelt zerstreut wie auch in ganzen kleinen Haufen vereinigt beobachtet werden, bemerkenswert ist aber die Tatsache, dafs die Haufen der Kügelchen gewöhnlich in der Nähe eines zerrissenen weifsen Blutkörperchens liegen und unter ihnen auch der oder die Kerne des Blutkörperchens zu finden sind.

Irgendwelche »Schwänze«, »Sprossen« oder »Geifseln« ist mir an diesen Körnchen weder durch die Giemsa- noch durch die Gramsche noch durch die Löfflersche Geifselfärbung nachzuweisen gelungen.

Daraus folgt, meiner Ansicht nach, dafs die Körnchen und Kügelchen nichts anderes als die Bestandteile der zerfallenen weifsen Blutkörperchen sein können.

Die erwähnten Körper von unregelmäfsiger Form haben sich in den nach Giemsa gefärbten Präparaten als die Blutplättchen erwiesen.

Schon bei meinen Blutuntersuchungen bei den rekurrenskranken Menschen und Tieren ist mir die grofse Menge kurz vor der Krisis zum Vorschein kommenden Blutplättchen aufgefallen.[1])

Aber die Menge der Blutplättchen, die bei den Flecktyphuskranken in der späteren Krankheitsperiode zum Vorschein kommt, ist direkt erstaunlich. Oft konnte ich von den Blutplättchen beinahe ganz eingenommene Gesichtsfelder beobachten.

3. Kulturversuche.

Die festgestellte Tatsache, dafs im Blute der Flecktyphuskranken während des Krankheitsanfalles regelmäfsig, wenn auch spärliche Stäbchen kreisen, hat die Veranlassung dazu gegeben, zu den Kulturversuchen überzugehen.

Diese Versuche wurden ausschliefslich mit dem Venenblute angestellt; aus dem Auswurf und der Konjunktivalflüssigkeit Kulturen zu züchten, hielt ich, in Anbetracht der zahlreichen und verschiedenartigen Bakterien, die in diesen Medien immer vorhanden sind, für zwecklos.

Zur Entnahme des Venenblutes wurde ein Arm beim Kranken in der Höhe der Achselhöhle, um eine Stauung hervorzurufen, mit einer Binde fest umwickelt; der Unterarm an der Volarseite mit Seifenwasser, Sublimat, 95 proz. Alkohol und Äther gereinigt, und aus der stärksten, prall gefüllten Vene wurde das Blut direkt mit einer 20 ccm grofsen Spritze angesaugt und sofort auf verschiedene Nährböden geimpft.

Als Nährböden benutzte ich Agar-Agar, Glyzerin-Agar, Zucker-Agar, Ascites-Agar, Löfflers Serum, Glyzerin-Kartoffel, Gelatine, Bouillon, Glyzerin-Bouillon und Zucker-Bouillon.

1) Zentralblatt für Bakteriologie, Bd. 46, S. 581 und a. a. O.

Zu den flüssigen Nährböden wurden gewöhnliche Reagenzgläser wie auch 100 ccm enthaltende Kölbchen benutzt.

Die erste Zeit habe ich die schräg erstarrten festen Nährböden in der Weise mit dem Blute geimpft, dafs möglichst die ganze Oberfläche des Nährbodens ausgenutzt werden sollte, und die flüssigen Nährböden wurden nach Einbringen von verschiedenen Blutmengen aufgeschüttelt und im Thermostaten bei 37° C stehen gelassen.

Die Gelatineröhrchen mufsten, da ein Thermostat von niedriger Temperatur nicht vorhanden war, bei Zimmertemperatur gehalten werden.

In dieser Weise wurde das Blut von 10 Fällen auf die erwähnten verschiedenen Nährböden geimpft, aber noch nach 10—12 Tagen blieben sämtliche feste Nährböden, im Strich wie im Stich[1]) steril und die Bouillon ganz klar.

Ich habe aber aus der Bouillon und aus dem Kondenswasser der festen Nährböden zahlreiche (ca. 30) Präparate angefertigt, diese nach Giemsa gefärbt und unter dem Mikroskop durchmustert, und konnte so die oben erwähnten Stäbchen in denselben nachweisen.

Nach Feststellung dieser Tatsache blieb nichts anderes anzunehmen, als dafs im Blutserum der Kranken vorhandene Substanzen auch im verdünnten Zustande die Entwicklung der Bakterien verhindern.

Um die konstante Wirkung der verdünnten, aber noch schädlichen Substanzen, soweit es möglich ist, von den Bakterien fernzuhalten, habe ich den Versuch in der Weise modifiziert, dafs ich in diejenigen Röhrchen mit festem Nährboden, die möglichst viel Kondenswasser hatten, das frisch entnommene Venenblut, die Oberfläche des Nährbodens schonend, direkt ins Kondenswasser gespritzt und sofort kräftig aufgeschüttelt habe, aber erst nach 15—20 Minuten durch die schräge Oberfläche des Nährbodens durchlaufen liefs.

1) Um eine Verunreinigung beim Anlegen von Stichkulturen zu vermeiden, habe ich das Blut direkt in die Röhrchen mit dem gerade erstarrten Nährboden gespritzt und nachher mit der Platinnadel durch das Blut Stiche in den Nährboden gemacht.

In 4 unter 12 Fällen, in denen das Blut in dieser Weise auf verschiedene Nährböden geimpft wurde, habe ich auf Glyzerin-Agar bzw. Ascites-Agar die Reinkultur gewinnen können.

Noch am dritten Tage nach der Impfung habe ich an der Oberfläche des Nährbodens bei der mittelbaren Betrachtung meist nichts wahrnehmen können, habe ich aber dieselbe unter der Lupe betrachtet, so konnte ich vereinzelte winzige, durchsichtige Erhabenheiten von unregelmäſsiger Form konstatieren.

Nach weiteren 1—2 Tagen wurden diese Erhabenheiten schon der direkten Beobachtung zugänglich; sie sind gröſser geworden blieben aber durchsichtig, behielten ihre unregelmäſsige Form und erinnerten nach der letzteren an das anfängliche Wachstum der Tuberkelbazillen.

Derartige, wenn auch vereinzelte Kolonien, die bei der mikroskopischen Untersuchung sich als eine Reinkultur der erwähnten Stäbchen erwiesen haben, konnte ich zwar in 8 unter den zuletzt erwähnten 12 Fällen feststellen, die weitere Züchtung ist aber nur in 4 Fällen gelungen.

In der ersten Generation der weiteren Züchtung wuchsen die Bakterien am reichlichsten auf Ascites-Agar, spärlicher auf den übrigen festen Nährböden und gaben absolut kein Wachstum auf Gelatine und Bouillon.

Die weiteren Generationen wuchsen auch aber auf den letzterwähnten Nährböden vorzüglich, der Charakter des Wachstums veränderte sich jedoch mit der Zeit und variierte je nach dem Nährboden.

Untersuchte Kolonien hängender Tropfen aus den ersten Generationen ergaben eine Reinkultur von kurzen, dicken, unbeweglichen Stäbchen mit abgerundeten Enden, die an den Polen stärker lichtbrechend als in der mittleren Zone waren. Sie lagen meist paarweise oder zu kleinen Haufen vereinigt, aber in den letzten trat die Tendenz der Stäbchen, sich mit dem längeren Durchmesser aneinander zu lagern, deutlich zu Tage.

Nie konnte ich im hängenden Tropfen oder in gefärbten Präparaten aus frischen Kulturen auch nur kurze Ketten aus den Stäbchen beobachten.

Schon in den ersten Generationen haben sich die Stäbchen mit den verschiedensten Anilinfarben wie auch nach Gram färben lassen.

Bei der Färbung sehen die Stäbchen nicht homogen aus, sondern die Pole sind intensiv gefärbt, die mittleren Partien aber nur schwach, oft ganz ungefärbt, und das Aussehen der Stäbchen ist ein verschiedenes in ganz jungen oder nur einige Tage alten Kulturen.

In den ganz jungen Kulturen sehen die Stäbchen etwas kürzer aus und liefern nach der Färbung ein Bild, welches mehr an die Pestbazillen erinnert, einen oder zwei Tages päter erscheinen sie schon etwas weniger plump und erinnern beim Färben mehr an Pseudodiphtheriebazillen.

Werden dagegen 4—5 Tage alte Kulturen mit Löfflers Methylenblau gefärbt, dann kann man bei oberflächlicher Betrachtung mit dem Mikroskope vermuten, dafs man eine Reinkultur von Mikrokokken vor sich hat.

Da ich die fünfte Generation zweier Reinkulturen meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Prof. Dr. J. Orth zur Prüfung nach Berlin geschickt habe und Herr Geheimrat Orth die Prüfung der Kultur in seinem Institut Herrn Prof. Dr. Morgenroth überliefs, der sie in liebenswürdiger Weise auch ausgeführt hat, so will ich, um jede Wiederholung bei der Schilderung zu vermeiden, das, was Herr Prof. Dr. Morgenroth über die Eigenschaften der weiteren Generationen der Reinkultur ermittelt hat, hier anführen.

›Wachstum der ersten Kulturen auf Agar, Ascites-Agar, Löffler-Serum, Bouillon, Ascites-Bouillon bei 37° sehr langsam in den ersten beiden Tagen, am dritten Tag ziemlich erheblich. Eine zweite Generation wächst rascher, die Verlangsamung ist vielleicht mit auf den langen Transport der Ausgangskultur zurückzuführen.

Bei Zimmertemperatur auf Agar und Bouillon in 4 Tagen kein Wachstum. Auch alte Brutschrankkulturen zeigen kein weiteres Wachstum bei Zimmertemperatur.

Die Kulturen auf Agar und Ascites-Agar bestehen aus teilweise konfluierten, teilweise einzelnen runden Kolonien, die am Rande der Kultur tautropfenförmig erscheinen. Sie erscheinen im Zentrum trocken, auch beim Abnehmen mit der Öse nicht schleimig. Beim Beginn des Wachstums ähneln sie Streptokokkenkolonien, weiterhin tritt eine leichtgelbliche Färbung ein.

Das Wachstum ist am stärksten auf Ascites-Agar, ganz gut auf schwch alkalischem Agar, weniger gut auf Löfflerserum.

Die Kulturen in Ascites-Bouillon zeigen eine gleichmäfsige Trübung, dann krümeligen Bodensatz.

Die Kulturen auf schwach alkalischer Bouillon trüben die Flüssigkeit nicht gleichmäfsig, es bilden sich feine, krümelige Niederschläge, die an der Wand und am Boden des Reagenzglases festhaften und den Eindruck von Wachs- oder Fettpartikelchen erwecken könnten.

Die mikroskopische Betrachtung ergibt mittelgrofse, ziemlich plumpe Stäbchen mit abgerundeten Enden, die später lichtbrechend erscheinen, als die mittleren Partien. Die Stäbchen sind unbeweglich. Sie nehmen die Färbung mit auf $^1/_4$ verdünntem Carbolfuchsin leicht an und zeigen vielfach eine hellere mittlere Zone.

Sporen wurden nicht beobachtet.

Die Stäbchen sind grampositiv.

Aussehen und Lagerung auf 4 tägigen Agarkulturen erinnert an manche Kulturen von Pseudodiphteriebazillen.

In älteren Agar- und Bouillonkulturen treten offenbar Degenerations formen auf, die Gröfse der Stäbchen erscheint dann sehr wechselnd, auch einzelne längere Fäden kommen vor.«

Wenn ich dazu noch hinzufüge, dafs die Kulturen auf Glyzerin-Agar reichlicher als auf dem einfachen Agar und mehr konfluierend, dagegen auf Zucker-Agar ebenso reichlich, aber in vereinzelten Kolonien wachsen; dafs auf Gelatine die Stäbchen ebenso im Strich wie im Stich bei Zimmertemperatur konfluierend wachsen; dafs endlich auf Glyzerin-Kartoffel kein wahrnehmbares Wachstum konstatiert werden konnte, so wird dies ziemlich alles sein, was ich bis jetzt ermitteln konnte.

Nachdem in dieser Weise die kulturellen und morphologischen Eigenschaften der Stäbchen näher ermittelt wurden, mufste noch der Versuch gemacht werden, die regelmäfsige Gewinnung der Reinkultur von jedem Kranken zu ermöglichen.

Wie oben auseinandergesetzt wurde, habe ich in 8 unter 12 Fällen die Kolonien in der ersten Generation beobachten können, und von diesen ist mir nur in 4 Fällen die weitere Züchtung gelungen.

Diese beiden Tatsachen, dafs die Kolonien überhaupt nicht in allen Fällen zum Vorschein kamen und von den zum Vorschein gekommenen Kolonien nicht sämtliche weiter gezüchtet

werden konnten, müssen, meiner Ansicht nach, auf mehrere Umstände zurückgeführt werden.

Erstens darf nicht aufser acht gelassen werden, dafs beim Fliefsenlassen des mit Blut vermischten Kondenswassers über die Oberfläche des Nährbodens, wie ich es in meinen Versuchen geübt habe, nicht immer die Bakterien an der Oberfläche des Nährbodens haften bleiben müssen, und wenn keine Bakterien haften bleiben, so kann auch kein Wachstum zustande kommen.

Zweitens ist auch möglich, dafs die haften bleibenden Bakterien eine lebenstüchtige Generation nur auf bestimmten Nährböden liefern können, wofür auch die Tatsache spricht, dafs die meisten Kulturen auf Glyzerin-Agar erhalten wurden.

Endlich kann die Lebenstüchtigkeit der im Blute kreisenden Bakterien je nach der Krankheitsphase und je nach dem einzelnen Individuum eine verschiedene sein.

Für die letztere Möglichkeit sprechen die von mir bei der Febris recurrens festgestellten Tatsachen[1]) wie auch diejenige, dafs überhaupt die verschiedensten im Blute zum Vorschein kommenden Keime sich nie regelmäfsig züchten lassen.

Und da die von mir gezüchteten Kulturen von Fällen stammten, die im 6. bis 14. Krankheitstagen sich befanden, so glaubte ich nur in der Weise der Frage etwas näher treten zu können, wenn von jedem Kranken wiederholt und jedesmal zahlreiche Röhrchen mit verschiedenen Nährböden gleichzeitig mit dem Venenblute beschickt werden.

Um der letzteren Bedingung entsprechen zu können, mufsten vom Kranken jedesmal ca. 20 ccm Blut entnommen werden, und deshalb konnte die zweite Bedingung nicht erfüllt werden.

Aus diesem Grunde mufste ich mich damit begnügen, von jedem Fall einmal zahlreiche Röhrchen anzulegen. Leider war die Epidemie schon im Erlöschen, aufserdem mufste ich noch aus anderen Gründen meine Untersuchungen abschliefsen und ich konnte deshalb nur an 6 Fällen diese Versuche ausführen.

1) Virchows Archiv, Bd. 194, Beiheft S. 94—98.

In diesen 6 Fällen habe ich jedesmal je 10 Röhrchen mit Agar, Glyzerin-Agar, Löffler-Serum und Bouillon geimpft und habe dabei in drei Fällen die Reinkultur erhalten.

In zwei der positiv ausgefallenen Fälle habe ich in ganz gleicher Weise wie vorher schon am 2. bzw. 3. Tage die Kolonien an der Oberfläche des Glyzerin-Agars deutlich wahrnehmen können, und die weitere Züchtung hat Reinkulturen mit den geschilderten Eigenschaften ergeben.

Dagegen konnte ich im dritten positiv ausgefallenen Versuche noch am 4. Tage in keinem einzigen der Röhrchen etwas wahrnehmen.

Bei der Untersuchung der Röhrchen sind mir zwei mit Löffler-Serum aufgefallen, in denen eine ganz reine Oberfläche des Nährbodens zum Vorschein kam, woraus ich den Schlufs gezogen habe, dafs diese Röhrchen, ohne geschüttelt zu werden, in den Brutschrank gebracht wurden.

Deshalb habe ich das Kondenswasser in diesen Röhrchen nach kräftigem Schütteln über die Oberfläche fliefsen lassen und wieder in den Termostaten gebracht.

Am nächsten Tage war die Oberfläche des Nährbodens in einem von diesen Röhrchen mit zahlreichen vereinzelt zerstreuten Kolonien bedeckt.

Die Kolonien waren ganz rund, ziemlich grofs und erhaben und von gelblicher Farbe, die auch sonst die Kolonien auf diesem Nährboden haben.

Die mikroskopische Untersuchung ergab plumpe, unbewegliche Stäbchen von ovoider Form, die in jungen Kulturen sich ganz homogen gefärbt haben, in den älteren dagegen die erwähnte hellere mittlere Zone hatten.

Sie waren gramfest und zeigten beim weiteren Züchten auf verschiedenen Nährböden dieselben kulturellen Eigenschaften wie die vorher beschriebenen, nur auf Löfflers Serum wuchsen sie bedeutend reichlicher.

Als ich nachher, schon mit Absicht, in einigen Fällen die geimpften Röhrchen zuerst drei Tage im Thermostaten stehen gelassen und nachher das Blut enthaltende Kondenswasser

geschüttelt habe und über die Oberfläche des Nährbodens fließen ließ, blieben diese Röhrchen trotzdem steril.

Worauf diese Abweichung in der Form der Stäbchen des einen Falles zurückzuführen ist, konnte ich nicht ermitteln.

Im ganzen wurden also in 28 Fällen die Kulturversuche ausgeführt, und wenn man von den 10 ersten Fällen absieht, die untersucht wurden, bevor ich die mehr zutreffende Methode herausgefunden habe, so ist es mir in 7 unter 18 Fällen gelungen, die Reinkultur zu gewinnen.

4. Agglutinationsversuche.

Sofort, als mir die zweite Reinkultur aus dem Blute zu gewinnen und ihre Identität mit der ersten Kultur festzustellen gelungen ist, habe ich, um mich über die ätiologische Bedeutung der gezüchteten Stäbchen zu unterrichten, einen Agglutinationsversuch angestellt.

Zu diesem Versuch wurde das Blut von einem Kranken, der seit einigen Tagen den Krankheitsanfall überstanden hat, entnommen.

Da mir keine elektrische Zentrifuge zur Verfügung stand, so habe ich das Blut 24 Stunden auf Eis gehalten und nachher das ausgeschiedene Serum dekantiert.

Aus dem gewonnenen Serum wurden zwölf verschiedene Verdünnungen (von 1 : 10 bis 1 : 10240) hergestellt und zum Versuch mit der gewonnenen Reinkultur benutzt.

Eine deutliche Agglutination konnte noch in der Verdünnung 1 : 2560 nach 3 Stunden konstatiert werden.

Diese überraschenden Ergebnisse des Agglutinationsversuches haben mich veranlaßt, da ich gleichzeitig mit zahlreichen anderen Versuchen beschäftigt war, die nicht unterbrochen werden konnten und viel Zeit in Anspruch nahmen, die planmäßige Ausführung von zahlreichen Agglutinationsversuchen auf eine spätere Zeit zu verschieben.

Als ich aber später, nachdem die anderen Untersuchungen abgeschlossen waren und ich im Besitze von mehreren seit

längerer Zeit fortgezüchteten Kulturen war, die Agglutinationsversuche wieder in Angriff genommen habe, um dieselben planmäfsig auszuführen, konnte ich nicht mehr ein Serum von einem derartigen hohen Agglutinationstiter finden.

Es gelang mir überhaupt nur die später gewonnenen Kulturen mit Serumverdünnungen bis 1 : 160 bzw. 1 : 320 zu agglutinieren, aber selbst das ist mir nicht regelmäfsig mit jedem Serum gelungen.

Und auch von den Fällen, in denen die Agglutination scheinbar gelungen ist, kann ich nicht mit Sicherheit behaupten, dafs es sich dabei tatsächlich um eine Agglutination gehandelt hat, denn nach längerem als 3 Stunden Stehenbleiben des Versuchsobjektes im Thermostaten konnte auch in der Kontrolle ein gleich grofser Niederschlag konstatiert werden.

In den Versuchen mit den anderen Kulturen konnte die gleichmäfsige und gleichzeitige Bildung des Niederschlages in sämtlichen Röhrchen allmählich verfolgt werden, und nach ca. 2 Stunden war die Agglutination schon in sämtlichen Serum-Verdünnungen wie auch in der Kontrolle komplett.

Diese stark abweichenden Ergebnisse im Agglutinationsvermögen derselben Kultur in den ersten Generationen und nach längerem Fortzüchten auf künstlichen Nährböden kann vielleicht mit auf die Veränderung der biologischen Eigenschaften der Stäbchen zurückgeführt werden.

Dafs in der Tat eine Veränderung in den biologischen Eigenschaften der Stäbchen zustande kommt, folgt schon daraus, dafs sie in den ersten Generationen weder in Bouillon noch auf Gelatine bei Zimmertemperatur wachsen, geben aber auch auf diesen Nährböden reichliches Wachstum, nachdem sie mehrere feste Nährböden bei Bruttemperatur passiert haben.

Von Bedeutung mufs auch die Tatsache sein, dafs die Stäbchen in den Bouillonkulturen keine gleichmäfsige Trübung erzeugen und sich auf den Boden und die Wand des Reagenzglases niedersetzen.

5. Tierversuche.

Zuerst wurden verschiedene Tiere mit dem Blute der Kranken geimpft.

Das Blut wurde in der weiter oben beschriebenen Weise aus der Armvene mit einer Spritze entnommen und sofort auf die Tiere subkutan an der Bauchseite verimpft.

Von der bei meinen früheren Impfversuchen mit dem Rekurrenssblute[1]) festgestellten Tatsache ausgehend, dafs junge Mäuse und Ratten im Gegensatz zu den alten Tieren (das konnte ich jetzt auch in bezug auf die Kaninchen feststellen) für eine Impfung mit spirillenhaltigem Blut empfänglich sind, habe ich auch bei diesen Versuchen hauptsächlich junge Tiere benutzt.

Es wurden 7—11 g schwere weifse Mäuse, 22—28 g schwere Ratten, 130—190 g schwere Meerschweinchen und 358—695 g wiegende Kaninchen gewählt.

Den Mäusen und Ratten wurden je 0,5 ccm, den Meerschweinchen und Kaninchen je 1 ccm Blut eingeimpft.

Die Mäuse sind schon nach einigen Stunden gestorben, und bei der Sektion konnte nichts Abnormes festgestellt werden.

Die Ratten sind erst am 3. oder 4. Tage nach der Impfung eingegangen bzw. im Eingehen getötet worden.

Nach der Impfung sahen sämtliche Tiere krank aus. Während aber die einen unaufhörlich im Glase herumliefen, safsen die anderen zusammengezogen ganz ruhig, aber sämtliche Tiere waren gegenüber jeder Berührung sehr empfindlich.

Ein Gewichtsverlust konnte nicht festgestellt werden. Bei der Sektion wurde in einigen Fällen eine stark vergröfserte dunkelrote Milz gefunden, in den anderen war die Milz nur unbedeutend vergröfsert und hatte die normale Farbe.

Bemerkenswert ist die Tatsache, dafs in den meisten der letzterwähnten Fälle das Blut, mit dem die Tiere geimpft wurden, kurz vor der Krisis von den Kranken entnommen wurde.

---

1) Zentralblatt für Bakteriologie, Bd. 46, S. 581 u. Bd. 49, S. 183.

Aber auch bei den Tieren, die gleichzeitig mit demselben Blute geimpft wurden, waren die Sektionsbefunde nicht ganz übereinstimmend.

In den Ausstrichen aus der Milz und Knochenmark konnten in einigen Fällen durch die Giemsa-Färbung die erwähnten Stäbchen nachgewiesen werden.

Von den geimpften Meerschweinchen ist das 130 g schwere ca. 30 Stunden nach der Impfung im Eingehen getötet worden.

Schon 12 Stunden nach der Impfung wog das Tier 110 g, hatte struppiges Haar, zitterte und war sehr empfindlich und zuckte schon bei der leisesten Berührung.

Vor der Tötung lag das Tier an der Seite, atmete sehr schnell, und seine Beine der Impfseite waren dem Schwanze zu starr gestreckt und an das Abdomen angezogen.

Die Sektion ergab eine starke Aufblähung des Abdomens, eine starke Injektion des Dünndarms und eine kleine, weiche und anämische Milz.

In den Ausstrichen mit dem Herzblut und den Organen konnten keine Stäbchen nachgewiesen werden.

Es mufs dabei noch hinzugefügt werden, dafs der Kranke, von dem das Blut zur Impfung entnommen wurde, nach einigen Tagen in soporösem Zustande in Krämpfen und Delirien zugrunde ging.

Bei den übrigen Meerschweinchen stieg am Tage nach der Impfung die Temperatur auf 0,8—1,2°, sie sahen auch krank aus, fieberten noch einige Tage, hatten keine Frefslust, erholten sich aber nach 6—8 Tagen ganz.

Von den Kaninchen hat das 358 g schwere im Laufe von drei Tagen 70 g verloren. Es safs ruhig zusammengezogen in der Ecke des Käfigs, hatte keine Frefslust und sah schwer krank aus.

Die Temperatur stieg schon 12 Stunden nach der Impfung von 38°—40° C und bewegte sich bis zum Tode, der am 4. Tage nach der Impfung erfolgte, zwischen 40 und 41,2° und zeigte abendliche Exacerbationen von 1—1,5°.

Die Sektion ergab eine Hyperämie der Organe, eine stark vergröfserte dunkelrote Milz und dunkelrotes Knochenmark.

In den Ausstrichpräparaten sind die Stäbchen nachgewiesen worden.

Die zwei anderen Kaninchen haben zwar auch die ersten Tage nach der Impfung krank ausgesehen und hatten keine Frefslust. Sie haben aber schwach gefiebert und keines von ihnen, weder das ältere, 695 g wiegende, noch das jüngere, 372 g schwere, hatte einen erheblichen Gewichtsverlust gezeigt, und beide haben sich ganz erholt.

Als die Tiere nach zwei Wochen getötet wurden, konnte bei der Sektion nichts Auffallendes wahrgenommen werden. Die Organe dieser wie sämtlicher anderer Tiere wurden für eine spätere mikroskopische Untersuchung konserviert.

Ausgedehnte Versuche mit den Reinkulturen, wie ich sie, als die wichtigsten, für notwendig hielt, auszuführen, ist mir zu meinem gröfsten Bedauern nicht gelungen, weil ich keine Tiere finden konnte.

Die Tiere für die oben geschilderten Versuche wurden mir vom hiesigen Bakteriologischen Institut verkauft, als ich mich nachträglich wieder an das Institut gewendet habe, konnte ich keine Tiere mehr bekommen und mufste mich mit denjenigen vereinzelten Tieren begnügen, die ich in der Stadt finden konnte.

Es wurden im ganzen 9 und 12 g schwere Mäuse, 25 und 29 g schwere Ratten; 182, 195 und 253 g schwere Meerschweinchen und 342, 390 und 740 g schwere Kaninchen mit Reinkultur geimpft.

Die Kulturaufschwemmung wurde in der Weise vorbereitet, dafs von zwei auf Glyzerin-Agar gewachsenen, drei Tage alten Kulturen die Kulturmassen mit dem Kondenswasser verrieben und abgewaschen und nachher in 8 ccm steriler Bouillon aufgeschwemmt wurden.

Den Mäusen und Ratten wurde je 0,5 ccm, den Kaninchen und Meerschweinchen je 1 ccm der Aufschwemmung subkutan auf der Bauchseite verimpft.

Die Tiere wurden 8 Uhr abends geimpft, und schon 8 Uhr früh des nächsten Morgens wurden die Ratten und Mäuse tot aufgefunden.

Wie schnell die Tiere nach der Impfung zugrunde gingen, konnte ich deshalb nicht genau feststellen.

Nur das konnte wahrgenommen werden, daſs kurz nach der Impfung bei sämtlichen Tieren die Ohren stark injiziert und erregt waren.

Bei der Sektion konnte bei den Mäusen nichts Auffallendes festgestellt werden.

Von den sezierten Ratten war bei einer der Leib stark aufgebläht, in der Bauchhöhle war freie, ganz klare seröse Flüssigkeit vorhanden. Die Schleimhaut des Dünndarms, besonders aber des Magens war stark hyperämisch, die Milz von livider Farbe und mehr als viermal vergröſsert; Lungen stark hyperämisch, stellenweise von fester Konsistenz und weniger lufthaltig; im Herz ein groſses Blutgerinnsel; Knochenmark von dunkelroter Farbe.

In den Ausstrichen aus dem Herzblute, Milz und Knochenmark konnten die Bakterien nachgewiesen werden.

Die Meerschweinchen sahen nach der Impfung krank aus; sie saſsen zusammengezogen und ruhig im Käfig und hatten die ersten Tage keine Freſslust.

Kurz nach der Impfung wurde bei den Tieren eine starke Injektion und Erektion der Ohren beobachtet.

Die Temperatur stieg nach der Impfung, erreichte aber nie 40°, sank dagegen oft unter 37°, um am Abend sich wieder zu erhöhen. Überhaupt im Verlaufe der ganzen Beobachtungszeit hat die Temperatur tägliche Schwankungen von 0,5 bis 2° gezeigt, und immer war die Temperatur abends höher als morgens, nicht selten um 1 bis 2°.

Das Gewicht zeigte beim ältesten Meerschweinchen unbedeutende Schwankungen, aber im Laufe der ganzen Beobachtungszeit wurde das Anfangsgewicht nicht erreicht.

Dagegen hat bei beiden anderen Meerschweinchen das Gewicht allmählich abgenommen, und das Tier, welches an-

fänglich 182 g wog, war nach dem Tode, der am 16. Tage erfolgte, nur 127 g schwer.

Eine bemerkenswerte Erscheinung war beim dritten Meerschweinchen zu beobachten und deshalb soll dieser Versuch ausführlich geschildert werden.

Meerschweinchen. Gelb-weifs. 195 gr. Temperatur 37,2°.

21./IV. 1,0 ccm Kulturaufschwemmung subk. an der rechten Bauchseite.

Eine Stunde nach der Impfung starke Injektion und Errektion der Ohren.

22./IV.	200 g	t°. morgens	37,8°,	abends	38,2°.	Im Blute	keine	Bakterien.
23./IV.	200 »	» »	38,4°,	»	38,6°.	» »	»	»
24./IV.	200 »	» »	38,0°,	»	38,5°.	» »	vereinzelte	»
25./IV.	197 »	» »	38,8°,	»	39,4°.	» »	mehrere	»
26./IV.	188 »	» »	37,1°,	»	37,8°.	» »	keine	»
27./IV.	182 »	» »	36,6°,	»	38,1°.	» »	»	»
28./IV.	175 »	» »	37,2°,	»	37,2°.	» »	»	»
29./IV.	162 »	» »	36,2°,	»	34,0°.	Liegt an der Seite.		

Beim Anfühlen ist das Tier kalt, die Atmung ist nicht wahrzunehmen die Herzschläge fühlbar, aber sehr dumpf und langsam. Auf Stiche wie auch beim Annageln an das Brett reagiert es nicht. Das Tier wurde deshalb ohne Narkose seziert. Auch beim Aufschneiden der Bauchhöhle reagiert es nicht, und nur beim Aufmachen des Thorax ist ganz leichtes, kaum hörbares Stöhnen wahrzunehmen. Das Herz schlägt nur 24 mal in der Minute und arhythmisch: der Systole folgten schnell aufeinander zwei kurze Schläge, dann — eine lange Pause und nach derselben wieder dieselbe Reihenfolge.

Die Milz ist klein, anämisch, sonst nichts Besonderes.

Von den drei geimpften Kaninchen sind zwei jüngere kurz nach der Impfung eingegangen, das ältere blieb am Leben und wurde nach 16 tägiger Beobachtung getötet.

Das 390 g schwere Kaninchen ist schon nach ca. 12 Stunden tot aufgefunden worden und bei der Sektion konnte nichts Besonderes konstatiert werden.

Das zweite Kaninchen, welches 342 g vor der Impfung gewogen hat, ist am zweiten Tage nach der Impfung eingegangen, und bei der Sektion wurde eine starke Injektion des Dünndarms und des Magens, eine Hyperämie der Nieren und Lungen und eine vergröfserte dunkelrote Milz gefunden.

In den Ausstrichen aus der Milz wurden die Bakterien nachgewiesen.

Beim dritten, älteren Kaninchen, das am Leben blieb, trat auch, wie bei dem einen Meerschweinchen, nach dem Verschwinden der Bakterien aus dem Blute eine typische Krisis ein, und deshalb will ich auch diesen Versuch ausführlicher schildern.

Kaninchen. Weifs. 740 g. Temperatur 38°.

21./IV. 1 ccm Kulturaufschwemmung subkutan an der rechten Bauchseite.

22./IV.	730 g	t°.	morgens	38,9°	abends	39,2°.	Im Blute keine Bakterien.
23./IV.	745	» »	»	39,7°,	»	40,5°.	» » zahlreiche »
24./IV.	739	» »	»	39,4°,	»	38,3°.	» » vereinzelte » Das Blut gerinnt schnell.
25./IV.	704	» »	»	37,4°,	»	37,6°.	Im Blute keine Bakterien. (Blut aus der Vagina.)
26./IV.	685	» »	»	36,4°,	»	38,6°.	Blutaussch. a. d. Genitalien.
27./IV.	670	» »	»	38,2°,	»	38,7°.	do.
28./IV.	675	» »	»	38,0°,	»	38,8°.	Keine Blutausscheidung.
29./IV.	668	» »	»	37,8°,	»	38,8°.	—
30./IV.	667	» »	»	37,8°,	»	38,7°.	—
1./V.	699	» »	»	38,7°,	»	39,2°.	—
2./V.	655	» »	»	38,8°,	»	37,8°.	—
3./V.	665	» »	»	38,5°,	»	39,5°.	—
4./V.	635	» »	»	38,9°,	»	39,7°.	—
5./V.	632	» »	»	38,8°,	»	39,4°.	—
6./V.	625	» »	»	38,2°,	»	39,7°.	—
7./V.	615	» »	»	38,8°,	»	getödet.	

Bei der Sektion konnte aufser einer ausgesprochenen Anämie der Organe nichts Auffallendes verzeichnet werden. Die Organe wurden konserviert, aber mikroskopisch noch nicht untersucht.

In diesem Versuch ist also in ähnlicher Weise wie beim Meerschweinchen nach dem Verschwinden der Bakterien aus dem Blute eine typische Krisis eingetreten. Während aber beim Meerschweinchen der Krisis ein richtiger Kollaps folgte, kamen beim Kaninchen Blutausscheidungen aus den Genitalien zum Vorschein.

Aufserdem mufste beim Kaninchen nach der Krisis, wie es nach den Temperaturschwankungen und unaufhörlicher Abmagerung vermutet werden mufs, irgendein pathologischer Prozefs im Körper vor sich gegangen sein.

Wenn zum Schlufs die Ergebnisse der angeführten eigenen Versuche kurz zusammengefafst werden, so sind sie folgende:

1. In den Organen und Hautpetechien von 18 Flecktyphuskranken, die während des Krankheitsanfalles gestorben sind, wurden regelmäfsig durch die Silberimprägnation, wie auch durch die Gramsche Färbung ganz bestimmte kurze, meist paarweise liegende Stäbchen mit abgerundeten Enden nachgewiesen.
2. Dieselben Stäbchen wurden regelmäfsig während des Krankheitsanfalles auch im Blute von 58 Kranken, aber nur durch die Giemsa-Färbung nachgewiesen. Bei diesen Untersuchungen mit der erwähnten Färbung kam an den blau gefärbten Stäbchen regelmäfsig eine hellere mittlere Zone zum Vorschein.
3. Dieselben Stäbchen wurden auch aus dem Serum von 7 Kranken in Reinkultur gezüchtet, und in der Reinkultur haben die unbeweglichen gramfesten Stäbchen die gleiche Form, dieselbe hellere mittlere Zone und dieselbe Lagerung — paarweise — wie die im Blute nachgewiesene. Die kulturellen Eigenschaften dieser Stäbchen sind ganz eigentümlich.
4. Die gezüchtete Reinkultur der Stäbchen wurde in den ersten Generationen, die auf Bouillon noch kein Wachstum gaben, im Serum von einem Kranken, der vor einigen Tagen die Krankheit überstanden hat, noch in einer Verdünnung 1:2560 nach 3 Stunden deutlich agglutiniert. Die Kulturen, welche kurze Zeit auf künstlichen Nährböden weitergezüchtet wurden, konnten nur von Serumverdünnung 1:160 bzw. 1:320 agglutiniert werden, dabei kam aber auch in der Kontrolle eine komplette Agglutination zum Vorschein, wenn der Versuch länger als 4 Stunden im Thermostaten oder weitere 10—15 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen wurden.

In den Versuchen aber, die mit Kulturen angestellt wurden, welche längere Zeit auf künstlichen Nährböden gezüchtet wurden, trat schon nach 2—3 Stunden in sämtlichen Serumverdünnungen wie auch in der Kontrolle, eine komplette Selbstagglutination ein.

5. Das Blut der Flecktyphuskranken, während des Krankheitsanfalles entnommen und subkutan auf verschiedene Tiere verimpft, hat sich als sehr pathogen, besonders aber für die jüngeren Tiere, erwiesen.

6. Auch die Reinkultur der Stäbchen hat sich bei der subkutanen Injektion auf verschiedene Tiere als pathogen erwiesen. Die Tiere fieberten nach der Impfung, magerten ab, und zahlreiche von ihnen, wiederum hauptsächlich die jüngeren, gingen an der Impfung zugrunde.

   Am 3.—4. Tage nach der Impfung erscheinen die Stäbchen im Blute der geimpften Tiere, sind hier zwei Tage nachweisbar, und nach ihrem Verschwinden aus dem Blute trat beim Meerschweinchen und Kaninchen eine typische Krisis ein, wie sie beim Menschen beobachtet wird. Bei einem Meerschweinchen folgte der Krisis ein typischer Kollaps, an dem das Tier zugrunde ging.

7. Und da dieses Stäbchen in den Organen und im Blute der Flecktyphuskranken wie auch in den Reinkulturen, die aus dem letzteren gezüchtet wurden, meist paarweise vorkommt, so mufs es **Diplobazillus** genannt werden.

Zum Schlufs mufs ich die angenehme Pflicht erfüllen und meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Prof. Dr. J. Orth, für die Liebenswürdigkeit, mit der er meiner Bitte, die gewonnene Reinkultur in seinem Institute prüfen zu lassen, entgegengekommen

ist; Herrn Prof. Dr. Morgenroth für die Ausführung dieser Prüfung und Herrn Dr. med. G. J. Kwjatkowsky dafür, dafs er in liebenswürdigster Weise sein Laboratorium, sämtliche nötigen chemischen Hilfsmittel und das ganze pathologisch-anatomische Material mir überlassen hat, meinen innigsten Dank aussprechen.

Literatur.

Afanassjew, Wratsch 1895.
Albrecht, Deutsch. Archiv f. klin. Medizin 1881.
Benjasch, Wratsch 1899.
Calmette, Annales de micrographie 1893.
Curschmann, Das Fleckfieber. Notnagels Spezielle Pathol. u. Therapie, Bd. III, 1900.
Curtis et Combemal, La médecin moderne 1893.
Dubief et Bruhl, Bulletin de l'acad. de médec. 1893.
Dubief et Bruhl, La semain medicale, 1892.
Dubief et Bruhl, Archives de médec. expériment, t. VI.
Engel, Berlin. klin. Wochenschr. 1873.
Gotschlich, Deutsche med. Wochenschr. 1903.
Griesinger, Infektionskrankheiten. Virchows Handb. der spez. Pathologie und Therapie, 1855.
Guttmann, Virchows Archiv, Bd. 80.
Henle, Patholog. Untersuchungen. Berlin 1840.
Hlava, Sbornik lekarsky 1889.
Heydenreich, Über den Parasiten des Rückfalltyphus, Berlin 1877.
Kolle und Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorg., Bd. III.
Lewaschew, Wratsch 1892, 1894 und 1899.
Litten, Deutsch. Arch. f. klin. Medizin 1874.
Lubimow, Wratsch 1892.
Matschinsky, Russische Medizin 1892.
Naunyn, Berlin. klin. Wochenschr. 1874.
Obermeyer, Berlin. klin. Wochenschr. 1873.
Thoinot et Calmette, Annal. de l'Institut Pasteur 1892.
Weigert, Berlin. klin. Wochenschr. 1873.
Weinschal, Protokolle der kaukasischen med. Gesellschaft 1892.

Die Entfernung der Geruchsstoffe durch Ventilation.

Von

Prof. Dr. **Kifskalt**,

Abteilungsvorsteher am Institut.

(Aus dem Hygienischen Institut der Universität Berlin. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. M. Rubner.)

In Wohnungen armer Leute sowie in Kasernen, alten Gefängnissen etc. findet man bekanntlich charakteristische Gerüche. Diese sind nicht nur während des Bewohntseins vorhanden; sie schwinden auch nicht, nachdem die Insassen die Räume verlassen haben, sondern können sich noch monate-, ja jahrelang darin halten. Durch die gewöhnlich angeführten Prinzipien der Ventilation, die in der Seidelschen Formel ihren Hauptausdruck finden, ist dies Verhalten nicht zu erklären; leitet man Kohlensäure in die Räume, so ist sie nach kurzer Zeit wieder bis auf die normale Menge verschwunden.

Die in Betracht kommenden, uns unbekannten Stoffe scheinen sich also anders zu verhalten als die Kohlensäure. Ich versuchte nun, an einem anderen Gase ihr Verhalten klarzulegen, das zugleich riechen und in sehr geringen Mengen nachweisbar sein mufste. Als solches schien das Ammoniak am geeignetsten. — Um in die Räume die gewünschte Menge zu bringen, wurde es nicht hineinverdampft, da sich der Feuchtigkeitsgehalt der Luft nicht ändern sollte, sondern es wurde in eine flache Schale Ammoniaklösung und dazu Kalkmilch gegossen und dies längere

Zeit stehen gelassen; dann wurde die Schale entfernt und nun durch das Schlüsselloch Luftproben entnommen. Zur quantitativen Bestimmung wurden 5—23 l Luft durch zwei Peligotsche und drei Pettenkofersche Röhren mit 5proz. Schwefelsäure geleitet. Es zeigte sich, dafs in der Peligotschen und der ersten Pettenkoferschen Röhre nur manchmal alles Ammoniak zurückgehalten worden war; oft zeigten die zweite und sogar die dritte Pettenkofersche Röhre noch geringe Spuren, die für sich allein nicht bestimmbar waren. Für Messungen minimaler Mengen, wie sie z. B. in der Stadtluft vorkommen, ist also damit zu rechnen, dafs das System noch nicht genügt; für unsere Zwecke jedoch war die Genauigkeit ausreichend. — Die Bestimmung geschah kolorimetrisch mit ammoniakfreien Reagentien; das zum Vergleich verwendete Ammoniumchlorid wurde nicht mit destilliertem Wasser, sondern mit Natriumsulfatlösung von der gleichen Stärke wie die Versuchslösung verdünnt, da die gelbe Farbe in stärkeren Salzlösungen bedeutend intensiver auftritt.

1. Versuch.

19. X. 09. In einem Zimmer von 4,50 m Länge, 3,85 m Breite und im Mittel 2,23 m Höhe (schräges Dach), also 38,6 cbm Rauminhalt, wurden um die natürliche Ventilation nach Möglichkeit zu hemmen, die Fensterritzen verklebt und die Türspalten mit Watte verstopft. Im Zimmer stand ein Feldbett mit zwei Matratzen; darauf lagen zwei wollene Decken, aufserdem waren zahlreiche Kleider aufgehängt; auf einem Tisch lagen zwei Plüschkissen. — In eine Porzellanschale wurden 200 ccm Ammoniak und etwa 50 ccm Kalkwasser geschüttet. — Am nächsten Tage kam nochmals Ammoniak in die Schale.

21. X. Die Untersuchung der von aufsen entnommenen Luft ergab einen Gehalt von 0,5 ‰ Ammoniak. Dann wurde das Zimmer betreten. Die Luft war so, dafs die unwillkürliche Atmung durch die Nase sistierte. Nur ganz kurze Atemzüge (nicht unwillkürlich!) waren durch die Nase möglich; anscheinend nur soviel, bis die eingeatmete Luft die hintere Nasenschleimhaut erreichte. Dagegen gelang es leicht, durch den Mund tief zu atmen. — Es handelte sich also um eine von Trigeminusästen ausgehende reflektorische Lähmung des Atemzentrums, wie sie auch am Kaninchen bei Ammoniakatmung beobachtet wird[1]). Nase und Augen schmerzen. Ein Aufenthalt für längere Zeit wäre unmöglich gewesen[2]). —

1) Landois, Physiologie des Menschen.

2) Die Befunde über die Wirkungen einer Luft mit grofsem Ammoniakgehalt bieten auch für die Gewerbehygiene Interesse. Nach den

Es wurde nun das Fenster geöffnet und mit dem Ventilator Luft eingeblasen und mit dem Pappschirm gut verteilt, dann das Fenster geschlossen. — 10 Minuten nach dem Verlassen des Zimmers (12 Uhr) wurde Luft zur Untersuchung entnommen und 0,3104 ‰ NH_3 gefunden, dann der Ventilator wieder angestellt. ½ Stunde später ergab sich 0,3604 ‰, drei weitere Stunden später 0,3026 ‰, am nächsten Morgen 10 Uhr, nach viertelstündigem Laufenlassen des Ventilators, 0,144 ‰.

Der Versuch ergab also, daſs durch eine gründliche künstliche Ventilation das Ammoniak nicht aus dem Zimmer verschwindet, und daſs er auch durch natürliche Ventilation in auffallend geringer Weise abnimmt.

2. Versuch.

Zimmer wie vorher; eines der beiden Fenster wurde verklebt, das andere mit Watte abgedichtet. Trotzdem war die natürliche Ventilation nicht unbeträchtlich; sie wurde bei der gleichen Versuchsanordnung später mit Kohlensäure zu 0,8 pro Stunde bestimmt. Die Schüssel mit Ammoniak und Kalkwasser stand 2 Tage in dem Zimmer; dann (29. X. 10^{30} Uhr) ergab eine Probeentnahme 0,670 ‰ NH_3. Hierauf wurde sie herausgenommen; beim Betreten des Zimmers wurden dieselben Erscheinungen notiert wie beim 1. Versuch; dann wurde auch die Tür abgedichtet. — Ammoniakgehalt 11^{20} Uhr 0,678 ‰; 12^{43} Uhr 0,384 ‰. — Temperatur nachm. 3 Uhr im (Zimmer und auſsen + 14°, nachm. 6 Uhr 0,352 ‰.

2. Tag: morgens 10^{25} Uhr 0,17 ‰; Temperatur auſsen + 11°, innen 14°; nachmittags 5^{10} Uhr 0,134 ‰.

3. Tag: Temperatur auſsen 11°, innen 14°.

4. Tag: Temperatur auſsen 7°, innen 13°; vorm. 11^{45} Uhr 0,116 ‰.

5. Tag: 10^{15} Uhr 0,108 ‰.

Vom 6. zum 7. Tag lief durch ein Miſsverständnis der Ventilator, der von auſsen in Gang gesetzt werden konnte bei geschlossenen Fenstern und Türe. — Temperatur auſsen — 2,5°, innen 13°.

8. Tag: 10^{30} Uhr 0,051 ‰; Temperatur auſsen + 2° innen + 12°.

9. Tag: 10 Uhr 0,031 ‰; Temperatur auſsen — 1°, innen + 10°

10. Tag: 12 Uhr: 0,027 ‰; Temperatur auſsen + 0,5°, innen + 10°.

12. Tag: 0,03 ‰; Temperatur auſsen — 2°, innen + 7°

13. Tag: 0,037 ‰ Temperatur auſsen + 0,5°, innen + 7°.

Nachmittags 1 Uhr wurde der Ventilator von auſsen in Gang gesetzt und bis zum nächsten Morgen laufen gelassen.

Untersuchungen Lehmanns (Arch. f. Hyg. Bd. 5) sind Mengen über 0,5 ‰ in Räumen für längeren Aufenthalt entschieden unzulässig; 0,2—0,33 machten unangenehme Störungen, 0,07—0,11 sind eben an der Grenze des Unangenehmen. Ich notierte bei 0,67 ‰ und 0,5 ‰ den obigen Befund vgl. auch Versuch II); bei 0,1 ‰: tiefes Atmen etwas erschwert, bei 0,02 ‰ wurden nur Geruchsempfindungen festgestellt. Die Zahlen stimmen also mit denen Lehmanns sehr gut überein.

14. Tag: 0,034 °/₀₀; Temperatur aufsen — 2,5°, innen + 9°.

15. Tag: 0,02 °/₀₀; Temperatur aufsen + 1°, innen + 10°.

Nachmittags wurde das Zimmer betreten. Es zeigte sich ein sehr deutlicher Geruch nach Ammoniak. Dann wurde auch das Fenster geöffnet, der Ventilator dorthin gestellt und in Gang gesetzt, hierauf die Tür geschlossen.

16. Tag: morgens 10 Uhr nur noch geringer Geruch. Der Ventilator wurde ins Zimmer gestellt und auf die einzelnen Gegenstände gerichtet, dann wieder am Fenster laufen gelassen bis nachmittags 5 Uhr, worauf er abgestellt und Tür und Fenster geschlossen wurden.

17. Tag: 0,016 °/₀₀.

19. Tag: 0,0076 °/₀₀; beim Betreten des Zimmers schwacher Geruch.

21. Tag: 0,0173 °/₀₀.

27. Tag: 0,0145 °/₀₀; nach Betreten des Zimmers war der Geruch nach Ammoniak noch sehr deutlich. Tür und Fenster wurden offen gelassen.

30. Tag: Tür und Fenster geschlossen.

39. Tag: 0,010 °/₀₀. Um zu sehen, ob der Geruch nur an den Wolldecken etc. haftete, wurden alle Gegenstände aus dem Zimmer herausgenommen, mit Ausnahme des Tisches.

41. Tag: 0,0079 °/₀₀.

42. Tag: 0,0075 °/₀₀.

Das Resultat des Versuches soll später besprochen werden.

Es wurde nunmehr zur Kontrolle ein dritter Versuch in einem anderen Zimmer angestellt.

3. Versuch.

In dem Zimmer hatte sich täglich ein Diener aufgehalten, weshalb das Zimmer stark nach menschlichen Ausdünstungen roch. Es wurden Bettstücke, Kleider etc. hineingebracht, die noch niemals zu Versuchen verwendet worden waren. Tür und Fenster wurden nicht abgedichtet. Nach Ablauf des Versuches wurde durch Bestimmung mittels Kohlensäure ermittelt, dafs sich die Luft des Zimmers bei der gleichen Innen- und Aufsentemperatur, wie sie zu Anfang des Versuches herrschte, in einer Stunde 1,02 mal erneuerte.

Am 16. XI. wurde die Schale mit Ammoniak und Kalkwasser in das Zimmer gebracht, 3 Tage später wieder entfernt. Der Geruch war ziemlich stark, tiefes Atmen etwas erschwert. Die darauf sofort vorgenommene Untersuchung um 11^{10} Uhr ergab 0,0948 °/₀₀. Um 1^{10} Uhr wurden 0,043 °/₀₀, um 4^{10} Uhr 0,044 °/₀₀, um 6^{35} Uhr 0,038 °/₀₀ gefunden.

2. Tag: vorm. 9^{50} Uhr 0,023 °/₀₀.

3. Tag: 11 Uhr 0,014 °/₀₀.

5. Tag: 0,011 °/₀₀.

7. Tag: 0,003 °/₀₀.

9. Tag: 0,0026 °/₀₀.

10. **Tag**: Zimmer betreten. Geruch genau wie in einem Pferdestall[1]); deutlich nach Ammoniak.

14. **Tag**: 0,00376 $^0/_{00}$; Geruch wie vorher, deutlich, auch ohne genaues Schnüffeln zu riechen.

21. **Tag**: 0,00372 $^0/_{00}$.

Weiter wurden die Versuche nicht ausgedehnt. Sie hatten auch so schon ergeben, dafs sich Geruchsstoffe und Ammoniak, letzteres in quantitativ nachweisbaren Mengen, das eine Mal über 3, das andere Mal über 6 Wochen im Zimmer halten. Auch durch Öffnen der Fenster und Türen war es nicht zu entfernen; dieses wie auch selbst das Einblasen von Luft mit dem Ventilator und das direkte Anblasen der Gegenstände ebenfalls mit ihm hatten keinen merklichen Erfolg. Würden das Ammoniak und die Geruchsstoffe sich verhalten wie die Kohlensäure, so wären sie schon durch die natürliche Ventilation nach wenigen Stunden entfernt worden; bei einer natürlichen Ventilation von 1,02 pro Stunde wäre im letzten Versuche schon nach $3^1/_2$ Stunden 3 pro Million Ammoniak in der Luft gewesen (nach der Seidelschen Formel), und diese Zahl hätte sich dann aufserordentlich schnell weiter verkleinert. Wir müssen daher annehmen, dafs die Geruchsstoffe in übelriechenden Zimmern nicht frei in der Luft verteilt, sondern gröfstenteils adsorbiert sind.

Die Gasmenge, die auf manchen Körpern adsorbiert werden kann, ist aufserordentlich grofs. De Saussure fand (Winkelmann, Handbuch der Physik Bd. I), dafs Buchsbaumkohle von Ammoniak das 90fache ihres Volums auf sich niederzuschlagen vermag, von Schwefelwasserstoff das 55fache, von Kohlensäure das 35fache, von Sauerstoff das 9,25fache. Das adsorbierte Volumen ist also um so gröfser, je leichter das Gas verflüssigt werden kann. Von Bedeutung für die Aufnahme ist die Temperatur: nach Chappnis vermochte eine bestimmte Menge Kohle

---

1) Der Geruch wurde gleichzeitig von Herrn Dr. Thomas geprüft; die Resultate stimmten mit den meinen genau überein. — Über die unteren Grenzen der Riechbarkeit konnte ich in der Literatur keine genauen Angaben finden; sicher liegen sie nach den obigen Befunden unter 3 pro Million. — Von Interesse ist der obige Geruch nach Pferdestall, der sich aus menschlichen Ausdünstungen und Ammoniak zusammensetzt.

bei 15° 940,25, bei 25° 800,77 ccm Kohlensäure zu adsorbieren; ferner der Druck: bei 19° adsorbierten nach Kayser 22,5 g Buchsbaumkohle bei 600 mm 660 ccm, bei 700 mm 730 ccm. — Bei der Abgabe der adsorbierten Geruchsstoffe spielen also die in den normalen Grenzen vorkommenden Barometerdruck- und besonders Temperaturschwankungen sicher eine wesentliche Rolle. Auch die Feuchtigkeit ist sehr wichtig: Nach Lehmann (Archiv f. Hyg. Bd. 57) vermag feuchte Wolle soviel Ammoniak aufzunehmen wie trockene Wolle und das Wasser allein. Vor allem ist die Aufnahme und die Abgabe abhängig von den in der Luft vorhandenen Mengen; und zwar läfst sich das Adsorptionsgleichgewicht vielleicht durch folgende Formel richtig ausdrücken (Ostwald, Lehrbuch d. allg. Chemie II. Bd.):

$$C = k\, c^{\frac{1}{n}}$$

wobei C die an je 1 g Kohle hängende Menge des adsorbierten Stoffes, c die Konzentration des in der Luft vorhandenen Stoffes und k und n Konstanten sind, die von der Natur des Stoffes abhängen. Demnach würde unsere Kurve keine logarithmische sein, wie es im ersten Augenblick vielleicht den Anschein hat. Der steile Abfall am Anfang ist ja wohl z. T. dadurch bedingt, dafs sich in der Luft viel Ammoniak befand und mit dem ständig neu dazukommenden das Gleichgewicht noch nicht hergestellt war; doch beweisen die Versuche Lehmanns an Kleidungsstoffen, dafs das adsorbierte Ammoniak anfangs aufserordentlich rasch abgegeben wird.

Die Vorgänge bei der Entfernung der Geruchsstoffe aus Zimmern, in denen sie sich in gröfseren Mengen angesammelt haben, sind also folgende: Sie vermindern sich zuerst schnell, teils dadurch, dafs die Quelle entfernt wird, aus der sie stammen, teils weil die Abgabe der adsorbierten eine schnellere ist, wenn sich noch viele an den Gegenständen befinden. Dann stellt sich ein Gleichgewichtszustand her, d. h. es gehen in die Luft ungefähr ebensoviel über, wie durch die natürliche Ventilation entfernt werden. Dieser Gleichgewichtszustand ist charakteristisch für derartige Stoffe, im Gegensatze zur Kohlensäure. In diesen

Fällen läfst die Bestimmung der Kohlensäure auch keinen Schlufs auf die riechenden Bestandteile zu. Kohlensäure wird zwar auch adsorbiert, aber nur in geringerer Menge; und aufserdem enthält sie die eintretende Luft in relativ hoher Konzentration, so dafs von der adsorbierten vermutlich bald nichts mehr abgegeben wird. — Wird das Zimmer in diesem Zustande kräftig gelüftet, so verschwinden die Geruchsstoffe für kurze Zeit aus der Luft, um sich aber nach Schliefsen der Fenster von den Wänden her schnell zu ergänzen. — Erst nach langer Zeit, in einer Periode, die in den Versuchen nicht mehr erreicht ist, ist die Konzentration an den Oberflächen so stark gesunken, dafs sie nur in einer Menge abgegeben werden, die nicht mehr riechbar ist.

Eine genaue Erforschung der in der angeführten Formel vorkommenden Konstanten dürfte einstweilen noch nicht möglich sein, aufserdem nur für unter Aufsicht stehende Säle — Schulen, Gefängnisse — Erfolg versprechen, denn mit jeder Oberfläche, deren in den Zimmern so viele sind, ändern sich die Konstanten. Wichtig wäre allerdings die Feststellung, welche Körper die riechenden Gase besonders gut binden, um sie dann in desto längerer Zeit an die Luft wieder abzugeben. Ich hatte zuerst nach den Versuchen Lehmanns erwartet, dafs es die Wolldecken und Kleidungsstücke wären, doch zeigte sich, dafs nach ihrer Entfernung aus dem Zimmer der Ammoniakgehalt der Luft noch derselbe blieb. Auch die Wände und der Fufsboden haben eine stark geruchsbindende Kraft, und es dürfte von Wichtigkeit sein, welche Anstriche gewählt sind. Bei uns war es Ölfarbe und Kalkfarbe (und das Holz des Fufsbodens und Tisches).

Für die Stoffe, welche die Luft riechend machen, haben also im Momente ihres Entstehens und solange sie sich noch in der Luft befinden die Pettenkoferschen Anschauungen ihre Gültigkeit. Sind sie dagegen an der Oberfläche bereits adsorbiert worden, so gelten für ihre Entfernung andere, bedeutend kompliziertere Gesetze.

Über die bakteriziden und hämolytischen Eigenschaften der alkoholischen Bakterienextrakte.

Von

Prof. **Y. Fukuhara**

aus Japan.

Von der Zeit an, als Hankin[1]) einen thermostabilen bakteriziden Stoff aus Organen von Tieren gewinnen konnte, wurden viele ähnliche Beobachtungen (2—9) berichtet.

Seit wir die alkohollöslichen hämolysierenden Organautolysate und -extrakte experimentell untersucht[31]) haben, waren wir mit dem Thema beschäftigt, ob pflanzliche Zellen, insbesondere Bakterienzellen, auch eine in Alkohol lösliche hämolysierende bzw. bakterizide Substanz liefern können. Während die Veröffentlichung meiner Arbeit wegen persönlicher Umstände verzögert wurde, war die Arbeit von Landsteiner und seinem Mitarbeiter[11]) erschienen. Sie extrahierten ein hämolysierendes Lipoid durch Alkohol und Äther aus den Kulturfiltraten des Bacillus pyocyaneus. Im folgenden wollen wir also die von uns erhaltenen Untersuchungsergebnisse darlegen.

I.

Bakterizidie der alkoholischen Bakterienextrakte.

Die betreffenden Bakterien, die zur Untersuchung kamen, wurden auf Agarnährboden bei Bruttemperatur zur üppigen Entwickelung gebracht. Dann wurde der Bakterienrasen in sterilem,

destilliertem Wasser geschwemmt und 24 Stunden bei 37 ° C autolysieren gelassen, um die nachfolgende Extrahierung zu erleichtern. Die autolysierte Bakterienemulsion wurde mit einer zehnfachen Menge absoluten Alkohol versetzt und bei 37 ° C eine Woche lang belassen.

Hierauf wurde der entstandene Niederschlag abfiltriert, das klare Filtrat abgedampft, der Rückstand abermals in warmem Alkohol aufgenommen, filtriert und abgedampft. Der nun gebildete Rückstand wurde in steriler 0,85 prozentiger Kochsalzlösung eventuell in steriler Nährbouillon emulgiert.

Wir haben auch den alkoholischen Bakterienextrakt ohne die vorangehende Autolyse der Bakterien hergestellt und gefunden, dafs die so bereiteten Extrakte eine etwas schwächere Wirkung geäufsert haben.

Zu der Extrahierung haben wir auch Äther, Benzin, Petroläther und Chloroform angewendet und Alkohol als das beste Extrahiermittel gefunden.

Der in Alkohol unlösliche Niederschlag wurde nach Waschen mit reinem Alkohol getrocknet und in Kochsalzlösung oder in Bouillon aufgeschwemmt. Der alkoholunlösliche Rückstand von Staphylokokken und Pyocyaneusbazillen zeigte weder hämolysierende noch bakterizide Wirkung.

Was die bakteriziden Reagenzglasversuche anbelangt, so wurde eine gewisse Menge von in steriler Nährbouillon aufgenommenem Bakterienextrakt in ein steriles Röhrchen gefüllt und ein Tropfen einer Aufschwemmung von einer jungen Bakterienagarkultur in Bouillon zugefügt. Sofort nach gründlichem Vermischen wurde auch eine Öse von jenem Röhrchen in flüssigem Agar übertragen und zur Platte ausgegossen. Nach 3 bzw. 8 stündigem Verweilen der Probe im Thermostaten wurde das gleiche Quantum abermals in Agar übertragen und eine Platte hergestellt. Das Zählen der Kolonie geschieht nach 24 stündigem Aufenthalt der Platten bei 37 ° C. Als Kontrolle wurde ein Tropfen Bazillenaufschwemmung in Bouillon sofort nach Mischung und nach 3 bzw. 8 Stunden bei 37 ° C zur Platte ausgegossen.

Die nachstehende Tabelle I zeigt die gewonnenen Versuchsresultate.

Tabelle I.

a) Cholerabazillenextrakt: Milzbrandbazillus.

Menge des Extraktes	sofort	nach 3 Std.	nach 8 Std.
1,0	ca. 1902	2 000	150
0,5		2 160	600
0,25		3 500	5 500
0,1		4 080	6 000
Kontr.		4 000	7 000

b) Cholerabazillenextrakt: Cholerabazillus.

Menge des Extraktes	sofort	nach 3 Std.	nach 8 Std.
1,0	ca. 2880	2 950	∞
0,5		3 100	∞
0,25		3 500	∞
0,1		4 250	∞
Kontr.		4 200	∞

c) Pyocyaneusbazillenextrakt: Pyocyaneusbazillus.

1,0	ca. 40 000	27 000	46 800
0,5		35 000	∞
0,25		35 000	∞
0,1		41 000	∞
Kontr.		∞	∞

d) Pyocyaneusbazillenextrakt: Milzbrandbazillus.

1,0	ca. 1 320	0	0
0,5		0	0
0,25		0	0
0,1		80	0
Kontr.		2 500	6 500

e) Milzbrandbazillenextrakt: Milzbrandbazillus.

1,0	ca. 1320	1 000	∞
0,5		1 400	∞
0,25		1 400	∞
Kontr.		2 000	∞

f) Milzbrandbazillenextrakt: Pyocyaneusbazillus.

1,0	ca. 40 000	25 000	∞
0,5		25 000	∞
0,25		27 000	∞
Kontr.		27 000	∞

g) Prodigiosusextrakt: Typhusbazillus.

1,0	ca. 13 680	36 000	∞
0,5		36 000	∞
0,25		40 000	∞
Kontr.		42 000	∞

h) Prodigiosusextrakt: Prodigiosusbazillus.

1,0	ca. 23 400	36 000	∞
0,5		40 000	∞
0,25		47 000	∞
Kontr.		46 000	∞

i) Staphylokokkenextrakt: Milzbrandbazillus (Microc. pyog. aureus.

1,0	ca. 480	0	0
0,5		130	0
0,25		480	2 800
Kontr.		850	3 100

k) Staphylokokkenextrakt: Staphylococcus pyog. aur.

1,0	ca. 3 000	0	0
0,5		0	0
0,25		9 600	∞
Kontr.		10 000	∞

l) Streptokokkenextrakt: Milzbrandbazillus (Str. pyog.).

Menge des Extraktes	sofort	nach 3 Std.	nach 8 Std.
1,0		350	50
0,5	ca.	580	600
0,25	4 000	2 800	6 900
Kontr.		5 800	∞

m) Streptokokkenextrakt: Cholerabazillus.

Menge des Extraktes	sofort	nach 3 Std.	nach 8 Std.
1,0		450	300
0,5	ca.	530	380
0,25	800	800	1 500
Kontr.		2 700	17 900

n) Heubazillenextrakt: Cholerabazillus.

1,0		1 800	7 200
0,5	ca.	1 800	7 200
0,25	3 600	1 800	8 500
Kontr.		10 800	∞

o) Heubazillenextrakt: Heubazillus.

1,0		4 500	10 900
0,5	ca.	4 800	13 500
0,25	7 800	7 000	∞
Kontr.		12 000	∞

p) Typhusbazillenextrakt: Typhusbazillus.

1,0		4 000	∞
0,5	ca.	5 500	∞
0,25	3 000	8 000	∞
Kontr.		8 500	∞

q) Typhusbazillenextrakt: Cholerabazillus.

1,0		780	8 500
0,5	ca.	1 380	10 000
0,25	670	1 900	12 000
Kontr.		1 820	∞

r) Diphtheriebazillenextrakt: Diphtheriebazillus.

1,0		9 296	∞
0,5	ca.	9 000	∞
0,25	7 200	10 000	∞
Kontr.		10 560	∞

s) Diphtheriebazillenextrakt: Paratyphusbazillus.

1,0		12 000	39 000
0,5	ca.	17 000	∞
0,25	5 400	25 000	∞
Kontr.		25 000	∞

t) Paratyphusbazillenextrakt: Diphtheriebazillus.

1,0		12 960	∞
0,5	ca.	20 000	∞
0,25	10 440	21 600	∞
Kontr.		25 000	∞

u) Paratyphusbazillenextrakt: Paratyphusbazillus.

0,1		7 200	∞
0,5	ca.	7 400	∞
0,25	3 000	7 400	∞
Kontr.		9 100	∞

Aus diesem Versuche geht hervor, dafs es gelingt, die bakteriziden Substanzen durch Behandlung mit Alkohol aus einigen Bakterienleibern zu extrahieren.

Die verschiedenen Bakterienarten werden in sehr ungleicher Weise von den verschiedenen Bakterienextrakten beeinflufst; wir können dann mehrere Gruppen von Bakterienextrakten unterscheiden, solche, welche stark, wenig und fast gar nicht bakterizid wirken. Zu der 1. Gruppe gehören die alkoholischen Extrakte der Staphylokokken und Pyocyaneusbazillen. Paratyphusbazillen, Diphtheriebazillen, Typhusbazillen, Heubazillen, Milzbrandbazillen und B. prodigiosus lieferten kaum nennenswerte bakterizide Stoffe.

Dafs diese bakteriziden Bakterienlipoiden allmählich in Kulturmedien übergehen, zeigt folgende Tabelle.

Tabelle II.

10tägige Staphylokokkenbouillonkultur wurde zentrifugiert und die obere Flüssigkeit bei 40° C abgetrocknet und mit absolutem Alkohol extrahiert.

Der Extrakt wurde abgedampft und in Nährbouillon aufgenommen, um auf die Bakterizidie zu prüfen.

Zu dem Versuche wurden Dysenteriebazillen angewendet. Als Kontrolle wurde der alkoholische Extrakt der Nährbouillon gebraucht, welche ebenso genau wie Bouillonkultur bereitet worden war.

Menge des Bouillon-extraktes	Menge des Kultur-extraktes	Keimzahl	
		sofort	nach 4 Std.
1,0		800	2 200
0,5		680	2 000
	1,0	600	35
	0,5	810	100

Wie schon die tägliche Erfahrung im Laboratorium lehrt, ist das Wachstum der Bakterienkulturen, falls keine Übertragung auf frisches Nahrsubstrat stattfindet, namentlich für die sich vermehrenden Arten ein zeitlich ziemlich engbegrenztes. Es mufs die Erschöpfung des Substrates einerseits, Anhäufung von wachstumhemmenden Stoffwechselprodukte und dergleichen anderseits in Betracht gezogen werden.

Freudenreich[20]) hat auf die Wachstumhemmung der verschiedenen Mikroorganismen durch Pyocyaneuskulturen hingewiesen. Diese schädlichen Produkte sind zum Teil noch unvollständig bekannt. Emmerich und Löw[10, 13]) studierten die bakteriolytischen Stoffe der Pyocyaneusbazillen und erklärten das Wesen dieser Bakterizidie mit dem Vorhandensein eines Enzyms, der Pyocyanase. Aber Dietrich[21]) und Klimoff[22]) wandten sich gegen diese Ansicht. Raubitschek und Rufs[12]) haben einen fettartigen Körper aus der Pyocyanase gewonnen, der sich durch hochbakterizide Wirkung auf Milzbrandbazillen ausgezeichnet hat. Sie glaubten, dafs die keimtötende Eigenschaft der Pyocyanase auf die Gegenwart dieses Lipoids zurückzuführen sei.

Kreucher[32]) untersuchte die bakterizide Wirkung der Filtrate von Bouillonkulturen verschiedenen Alters von B. pyocyaneus, B. prodigiosus, Proteus vulgaris, B. fluorescens liquefaciens und Staphylokokkus auf Milzbrand- und Typhusbazillen. Er fand bei B. pyocyaneus die stärkste Bakterizidie. In allen Filtraten gingen Milzbrandbazillen leichter zugrunde als Typhusbazillen. Die bakterizide Wirkung der Filtrate wurde meistens durch $^1/_2$ stündiges Erhitzen auf 100^0 C aufgehoben.

Eykmann[14]) nahm an, dafs die Mikroorganismen, wahrscheinlich ohne Ausnahme, in Nährgelatine und Nähragar thermolabile, wachstumhemmende Stoffe bilden, die diffusibel sind, aber Porzellanfilter nicht oder nur in geringerem Mafse zu passieren vermögen. Es gelang Eykmann nicht, die thermolabilen Substanzen von den Bakterien zu trennen, weder durch Filtration noch durch Diffusionsversuche oder durch Zentrifugieren.

Conradi und Kurpjuweit[15]) glauben, nachgewiesen zu haben, dafs die Produktion dieser thermolabilen Substanzen bereits in der ersten Stunde beginnt und dafs diese Stoffe nach ihrem antiseptischen Werte zu der Gruppe der Enzyme gehörten oder ihnen doch nahestehen sollten. Sie haben diese hypothetischen Substanzen »Autotoxine« genannt.

Öbius[16]) überprüfte die Arbeit von Conradi und Kurpjuweit und kam zu dem Schlusse, dafs die Bakterien im allgemeinen entweder überhaupt keine thermolabilen entwicklungskemmenden Stoffe produzieren oder dafs diesen Stoffen wenigstens nicht die spezifische Wirkung zukommt, welche ihnen von Eykmann und insbesondere von Conradi und Kurpjuweit zugeschrieben wird; Passini[17]) konnte auch keine Hemmungsstoffe in Bouillonkulturen von B. coli nachweisen.

Dafs einige Mikroorganismen thermostabile bakterizide Stoffe in ihren Nährmedien nachweisen lassen, haben wir in der Staphylokokkenkultur und Pyocyaneuskultur gefunden. Bei dem Studium der wachstumhemmenden Subtanzen müssen wir die bakterizide Bakterienlipoide auch mitberücksichtigen. Wir werden übrigens darüber noch weitere Untersuchungen anstellen. Die bakterizide Wirkung der alkohollöslichen Bakterienextrakte haben wir auch im hängenden Tropfen beobachtet.

Zur Untersuchung der mikroskopischen Veränderungen der Bakterien durch die Bakterienextrakte haben wir Staphylokokken- und Pyocyaneusbazillenextrakte angewendet. Da die Veränderungen durch beide Extrakte fast gleich waren, wollen wir den Befund nur mit dem Staphylokokkenextrakte beschreiben.

Bei der mikroskopischen Untersuchung lösten wir die bakteriziden Extrakte in einer Flüssigkeit auf, die gleiche Mengen Nährbouillon und physiologische Kochsalzlösung enthielt. In die Flüssigkeit wird eine Aufschwemmung der zur Untersuchung kommenden Bakterien hineingemischt und unter hängenden Tropfen beobachtet. Je nach der Konzentration der bakteriziden Lösung und der Zeiträume sind die Veränderungen der Bakterien verschieden. Milzbrand- und Typhusbazillen werden sehr schnell aufgelöst. Bei Diphtheriebazillen, Staphylokokken, Cholerabazillen und Dysenteriebazillen konnten wir keine Auflösung der Bakterienleiber beobachten; diese Bakterien quollen auf und zeigten manchmal verschiedene Degenerationsformen mit körnigem Inhalt. Die so veränderten Bakterien färbten sich sehr schwach mit verschiedener Farblösung.

II.

Die hämolysierende Wirkung der alkohollöslichen Bakterienextrakte.

Was die alkohollöslichen hämolysierenden Stoffe der Bakterien und Kulturflüssigkeiten anbelangt, so sind wir auf die vor kurzem erschienenen Mitteilungen von Landsteiner und Raubitschek[11]) und von Raubitschek[18]) beschränkt.

Landsteiner und Raubitschek haben ein in Alkohol lösliches, hitzebeständiges Hämolysin aus Kulturfiltraten und Bazillenleibern des Pyocyaneus gewonnen.

Wir wollen die Resultate eigener Untersuchungen mitteilen.

Zur Untersuchung kamen Pseudodiphtheriebazillen, Diphtheriebazillen, Typhusbazillen, Choleravibrionen, Staphylokokken, Streptokokken, Hühnercholerabazillen, Milzbrandbazillen, Megateriumbazillen, Paratyphusbazillen, Prodigiosusbazillen und Heubazillen.

Tabelle III.
1,0 ccm Blutlösung (5 %).

Menge des Extraktes	Kaninchenblut	Ziegenblut	Hammelblut
a) Pseudodiphtheriebazillenextrakt.			
1,0	teilweise	0	0
0,5	»	0	0
0,25	Spur	0	0
0,1	»	0	0
b) Streptokokkenextrakt.			
1,0	teilweise	0	0
0,5	»	0	0
0,25	Spur	0	0
1,0	0	0	0
c) Choleravibrionenextrakt.			
1,0	schw. rot	0	0
0,5	»	0	0
0,25	Spur	0	0
0,1	»	0	0

d) Milzbrandbazillenextrakt.

Menge des Extraktes	Kaninchenblut	Ziegenblut	Hammelblut	Meerschweinchenblut
1,0	schw. rot	0	0	komplett
0,5	starke Kuppe	0	0	teilweise
0,25	»	0	0	»
0,1	0	0	0	Spur
		e) Pyocyaneusbazillenextrakt.		
1,0	teilweise	teilweise	komplett	—
0,5	»	»	teilweise	—
0,25	starke Kuppe	Spur	»	—
0,1	»	0	Spur	—
		f) Staphylokokkenextrakt.		
1,0	teilweise	Spur	teilweise	—
0,5	»	0	»	—
0,25	Kuppe	0	Spur	—
0,1	»	0	0	—

g) Prodigiosusextrakt
h) Paratyphusbazillenextrakt
i) Hühnercholeraextrakt
k) Heubazillenextrakt
l) Typhusbazillenextrat

} zeigten keine hämolysierende Wirkung.

m) Megatheriumbazillenextrakt

Menge des Extraktes	Kaninchenblut	Ziegenblut	Hammelblut	Meerschweinchenblut
1,0	komplett	teilweise	Spur	—
0,5	teilweise	Spur	0	—
0,25	Spur	0	0	—
0,1	0	0	0	—

Wir haben folglich nachgewiesen, dafs der echte Hämotoxinbildner (z. B. Staphylok.) auch eine fettähnliche hämolysierende Substanz in den Bakterienleibern enthält. Einige Mikroorganismen (z. B. Pyocyaneusb.), welche sich von den echten Hämotoxinbildnern dadurch unterscheiden, dafs die in ihren Kulturfiltraten nachweisbaren Hämolysine hitzebeständig sind, enthalten also in ihren Bakterienleibern auch eine hitzebeständige hämolysierende Substanz. (Auf die Hitzebeständigkeit der alkohollöslichen Bakterienhämolysine werden wir wiedor zurückkommen.)

Tabelle IV.

a) Bouillonkulturextrakt von Milzbrandbazillus.

1,0 Kaninchenblutlösung (5 %).

Menge des Extraktes	3 tägige Kultur	7 tägige Kultur	14 tägige Kultur	21 tägige Kultur
1,0	0	Kuppe	teilweise	—
0,5	0	»	starke Kuppe	—
0,25	0	»	»	—
0,1	0	0	Spur	—

b) Bouillonkulturextrakt von Pyocyaneusbazillus.

1,0	Spur	schw. rot	inkomplett	komplett
0,5	0	starke Kuppe	schw. rot	»
0,25	0	»	»	»
0,1	0	0	Spur	teilweise

c) Megatheriumbouillonextrakt.

1,0	0	teilweise	komplett	—
0,5	0	»	fast kompl.	—
0,25	0	Kuppe	starke Kuppe	—
0,1	0	0	Spur	—

d) Staphylokokkenbouillonkulturextrakt.

1,0	0	starke Kuppe	komplett	—
0,5	0	»	»	—
0,25	0	Spur	teilweise	—
0,1	0	0	starke Kuppe	—

e) Cholerabouillonkulturextrakt.

1,0	Spur	teilweise	fast komplett	—
0,5	0	starke Kuppe	teilweise	—
0,25	0	Spur	Spur	—
0,1	0	0	»	—

f) Typhusbazillenbouillonkulturextrakt.

1,0	Spur	Spur	Spur	—
0,5	0	0	0	—
0,25	0	0	0	—

g) Diphtheriebazillenbouillonkulturextrakt: keine Hämolyse.

Die alkoholischen Extrakte der Bouillonkulturen waren meistens neutral oder spurweise sauer. Es kam auch vor, dafs die Extrakte alkalisch reagierten In diesem Falle wurden sie zuerst neutralisiert und auf Hämolyse geprüft.

Die oben angeführte Tabelle (Tabelle IV) zeigt, dafs die Kulturflüssigkeiten einiger Mikroorganismen alkohollösliche hämolysierende Stoffe enthalten. Bei den Staphylokokken und Pyocyaneusbazillen liegt das Optimum des Gehaltes dieser Stoffe in der Nährflüssigkeit ungefähr am 14. Tage.

Der Kürze halber haben wir in den obigen Tabellen von unserem Protokolle nur einiges angeführt. Die alkohollösliche Bakterienhämotoxine sind bei verschiedenen Stämmen in ihrem Vorkommen bedeutenden Schwankungen unterworfen. Bas Blut der verschiedenen Tierarten wird von den alkohollöslichen Substanzen in verschiedener Weise gelöst, wie man schon in der obigen Tabelle ersieht. Aber die hämotoxische Wirkung ein und derselben Substanz auf das Blut verschiedener Tierarten ist wahrscheinlich identisch, weil die Wirksamkeit für eine Blutart durch die Erschöpfung des Hämolysins mit der anderen aufgehoben wird. Dies zeigt folgender Versuch.

Man fügt zu einer abgemessenen Menge von Bakterienextraktlösung einen Überschufs einer 5 prozentigen Kaninchenlösung hinzu, läfst das Gemenge 3 Stunden bei 37° C und dann 7 Stunden bei Zimmertemperatur stehen, zentrifugiert die nicht mehr gelösten Blutkörperchen ab und zu der abpipettierten klaren Flüssigkeit eine 5 prozentige Hammel- oder Meerschweinchenblutlösung hinzu. Beide Blutarten werden nun nicht mehr gelöst.

Fränkel und Baumaun[26]) fanden ein hitzebeständiges hämolysierendes Staphylokokkenfiltrat, das erst bei 80° C, ein anderes, das sogar erst bei 100° C seine hämolytische Wirkung nicht einbüfste.

Bulloch und Hunter[27]) haben das Pyocyaneushämolysin auf 55—60° C 30 Minuten bis 1 Stunde hindurch erhitzt, ohne seine Wirkung beeinträchtigen zu können, ebensowenig war dies bei einer 30 minutenlangen Erhitzung auf 100—120° C der Fall. Breymann[28]) fand auch stets Hitzebeständigkeit. Dies Hitze-

beständigkeit der Bakterienhämotoxine ist wahrscheinlich auf das Vorhandensein der thermostabilen lipoiden Bakterienhämotoxinen zurückzuführen, obwohl Dreyer und Blake[29]) die Identität des thermolabilen und thermostabilen Megatheriumhämotoxins nachzuweisen geglaubt haben.

Wir haben Bouillonkulturen vieler Stämme von Staphylokokken 5 Minuten gekocht und bemerkt, dafs einige Kulturflüssigkeiten noch schwache hämolytische Wirkung bewahrt haben. Von diesen Flüssigkeiten konnten wir durch Alkoholbehandlung eine hämolysierenden Stoff extrahieren. Auf die Hitzebeständigkeit der lipoiden Bakterienhämotoxine werden wir später noch zu sprechen kommen.

III.

Im Anschlufs an die bakterizide und hämolytische Wirkung der Bakterienlipoiden haben wir auch untersucht, wie sich diese Substanzen in Tierorganismen verhalten.

Wir haben die bakteriziden Extrakte von Staphylokokken und Pyocyaneusbazillen mit Agarkulturaufschwemmung von Choleravibrionen und Typhusbazillen an Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Nach $^1/_2$, 1, 2 und 3 Stunden wurden die Exsudate mittels steriler Kapillaren aufgenommen und sowohl färberisch als auch kulturell untersucht. Wir konnten aber keine bakterizide Erscheinung nachweisen.

Bassenge[19]) fand, dafs das Lezithin eine starke bakterienauflösende Wirkung auf Typhusbazillen in vitro, aber keine in vivo hat. Es ist daher wohl denkbar, dafs die Wirkung des Lezithins, eines Lipoides, durch die in dem Exsudat vorkommenden Eiweifsstoffe (Serumalbumin, Serumglobulin u. dgl.) gleich gehemmt wird, wie wir dieselbe Erscheinung mit Bakterienlipoide beobachteten (Tabelle XI). Wir wollen hier einige Versuche mit Lezithin anführen.

Tabelle V.

a) 1,0 ccm 2 proz. Lezithinemulsion[1]) + 1 Tropfen Cholerabazillenaufschwemmung + 1,0 ccm Bouillon.
b) 1,0 ccm 1 proz. Lezithinemulsion + 1 Tropfen Cholerabazillenaufschwemmung + 1,0 ccm Bouillon.

---

1) Das Lezithin wurde mit einer physiologischen Kochsalzlösung in einer sterilen Reibschale zerrieben und durch sterile Papierfilter filtriert.

c) 1,0 ccm 2 proz. Lezithinemulsion + 0,2 Normalkaninchenserum; ½ Stunde bei 58° C erhitzt, dann 1 Tropfen Cholerabazillenaufschw. + 0,8 ccm Bouillon.
d) 1,0 ccm 1 proz. Lezithinemulsion + 0,2 Normalkaninchenserum; ½ Stunde bei 58° C, dann 1 Tropfen Cholerabazillenaufschwem. + 0,8 ccm Bouillon.
e) 1,0 ccm 2 proz. Lezithinemulsion + 0,2 ccm ½ Stunde bei 58° C erhitztes Normalkaninchenserum + 0,8 ccm Bouillon + 1 Tropfen Cholerabazillenaufschwemmung.
f) 1,0 ccm 1 proz. Lezithinemulsion + 0,2 ccm ½ Stunde bei 58° C erhitztes Normalkaninchenserum + 0,8 ccm Bouillon + 1 Tropfen Cholerabazillenaufschwemmung.
g) 2,0 ccm Bouillon + 1 Tropfen von Cholerabazillenaufschwemmung.

	Keimzahl			
	sofort	nach ½ Std.	nach 4 Std.	nach 24 Std.
a	1 600	0	0	0
b	1 700	1 520	150	0
c	1 580	5 760	∞	∞
d	1 480	6 480	∞	∞
e	1 500	6 120	∞	∞
f	1 620	6 500	∞	∞
g	1 500	7 100	∞	∞

Die bakterizide Wirkung des Lezithin wurde also nicht nur durch die Erwärmung in eiweifshaltiger Flüssigkeit, sondern auch durch einfachen Zusatz des Normalserums inaktiviert.

Im Gegenteil wurde die bakterizide Wirkung der Fettsäuren, und zwar der Ölsäure durch einen einfachen Zusatz einer eiweifshaltigen Lösung nicht gehemmt (Tabelle VI). Es ist daher sehr wahrscheinlich, dafs die bakteriziden Bakterienextrakte mit Fettsäure nicht in Zusammenhang zu bringen sind.

Tabelle VI.
Jede Eprouvette wurde auf 1,0 ccm mit Bouillon gefüllt.

	Keimzahl (Choleravibrionen)		
	Einsaat	nach 4 Std.	nach 10 Std.
0,2 ccm Ölsäure	ca. 70 000	0	0
0,1 › ›		0	0
0,05 › ›		250	0
0,2 › › + 0,8 Meerschw.-Ser. (½ Std. bei 58° C erhitzt) . . .		∞	∞
0,2 ccm Ölsäure + 0,8 Meerschw.-Ser.		160	0
Kontrolle (Bouillon)		∞	∞

Dafs Cholesterin von unseren bakteriziden Bakterienlipoiden ganz ausgeschlossen ist, beweist folgender Versuch (Tabelle VII).

Tabelle VII.

Eine in Methylalkohol gesättigte Cholesterinlösung wurde im Verhältnis 1:19 mit Kochsalzlösung verdünnt. Jede Eprouvette wurde mit Nährbouillon auf 2 ccm gefüllt.

	Keimzahl (Choleravibrionen)	
	Einsaat	nach 7 Std.
0,5 ccm Cholesterinlösung . .	3 000	4 000
0,25 » » . .	2 500	4 000
0,1 » » . .	2 700	3 600
0,5 » Methylalkohol (1 : 19) .	2 880	4 500
0,25 » » » . .	3 600	4 500
0,1 » » » . .	1 800	4 000

Todd[33]), Kraus und Ludwig[34]), Streng[35]), Fukuhara[36]) u. a. haben die Wirkung der Bakterienhämotoxine und der Hämolysine in Organismen nachgewiesen. Man kann sich wohl vorstellen, dafs die alkoholische Bakterienhämotoxine keine Wirkung im Organismus ausüben, weil ihre Wirkung durch Bluteiweifs vollständig aufgehoben werden dürfte. Wir injizierten Meerschweinchen intravenös. Die Resultate wollen wir in folgender Tabelle zusammenstellen (Tabelle VIII).

Tabelle VIII.

Nr.	Dosis der intravenös injizierten Extraktaufschwemmung	Erscheinungen	Resultat
1	1,0 ccm	keine Veränderung des Urins	bleibt am Leben
2	2,0 »	do.	do.
3	3,0 »	do.	do.
4	4,0 »	do.	do.
5	5,0 »	do.	stirbt nach 5 Tagen Sektionsbefund: nichts Nennenswertes.

IV.

Es soll nun noch untersucht werden, ob die alkohollöslichen, bakteriziden Stoffe der Bakterien ebenso hitzebeständig ist, wie andere bakterizide lipoide Substanzen.

Die folgende Tabelle läfst ersehen, dafs sowohl die hämolisierenden als auch die bakteriziden Bakterienlipoide hitzebeständig sind.

Tabelle IXa.

Staphylokokkenextrakt: Typhusbazillen. Der Extrakt wird in Nährbouillon suspendiert. Jede Eprouvette wird auf 2,0 ccm mit Bouillon gefüllt.

	Sofort	Nach 6 Std.
0,5 ccm Extrakt	850	0
0,25 » »	1 000	50
0,5 » » (10 Min. bei 100° C erhitzt) .	900	0
0,25 » » Extrakt	1 100	120
Kontrolle (Bouillon)	1 100	∞

Tabelle IXb.

Pyocyaneusbazillenextrakt: Kaninchenblut. Der Extrakt wird in einer 0,85 proz. Kochsalzlösung suspendiert. 1,0 ccm Kaninchenblutlösung (5 %).

Menge des Extraktes	Menge des 10 Minuten bei 100° C erhitzten Extraktes	Hämolyse
0,5		c.
0,25		teilweise
0,1		Spur
	0,5	c.
	0,25	teilweise
	0,1	Spur

Dafs die alkohollöslichen Bakterienhämotoxine hitzebeständig sind, gibt Anlafs, sie von den thermolabilen Bakterienhämotoxinen abzugrenzen. Aber es ist noch nicht entschieden, ob man die von Fränkel und Baumann u. a. gefundenen hitzebeständigen Bakterienhämotoxine mit unseren Bakterienlipoiden identifizieren kann. Wir haben auch einige Staphylokokkenstämme gezüchtet,

deren Kulturfiltrate auch auf 100° C erhitzt, ihre hämolytischen Kräfte noch etwa $^2/_5$ der ursprünglich vorhanden sind. Die Wirksamkeit dieser von der Hitze nicht vernichteten Hämotoxine wurde nicht nur durch verschiedene gewöhnliche Normalsera, sondern auch durch die auf 100° C erhitzten eingebüſst.

Tabelle XII.

1,0 ccm 5 proz. Kaninchenblutlösung. Gesamtmenge auf 2,0 ccm gefüllt.

Staphylokokkenfiltrate	Normalsera	Erhitzte Normalsera	Hämolyse
0,5	—	—	komplott
0,2	—	—	»
0,1	—	—	»
0,5	0,1 Pferdeserum		Spur
0,2	»		0
0,1	»		0
0,5		1,0 Pferdeserum	Spur
0,2		»	0
0,1		»	0
0,5	0,1 Hundeserum		teilweise
0,2	»		0
0,1	»		0
0,5		0,1 Hundeserum	teilweise
0,2		»	0
0,1		»	0

Solche hitzebeständigen Hämotoxine konnten wir aus den Kulturfiltraten durch Alkohol extrahieren, kurz, die alkohollöslichen Bestandteile haben den Staphylokokkenfiltraten die hitzebeständige Eigenschaft gegeben.

Noguchi[39]) Liebermann[40]), Landsteiner u. a. haben gezeigt, daſs die fettartigen hämolysierenden bakteriziden Substanzen durch die Kombination mit Serumeiweiſs die Eigenschaft der Thermolabilität gewinnen. Wir haben oben erwähnt, daſs die hämolytische Wirkung der Bakterienlipoide sogar durch einen einfachen Zusatz von Normalserum eingebüſst wird. Die folgenden mit Bakterienextrakten ausgeführten Versuche zeigen das Unwirksamwerden der bakteriziden Extrakte nicht nur beim Er-

wärmen in eiweifshaltigen Lösungen, sondern auch durch einfaches Beimischen derartiger Lösungen.

Tabelle XI.

Staphylokokkenextrakt: Choleravibrio.

	Keimzahl	
	sofort	nach 6 Std.
Extraktaufschwemmung 0,4	1 200	0
Extraktaufschwemmung 0,4 } Inaktiviertes Kaninchenserum 0,2 } . . .	1 360	25 000
Extraktaufschwemmung 0,4 } Inakt. Kaninchenserum 0,2 } 30 Min. 60° C	1 120	30 000
Inaktiviertes Kaninchenserum 0,2	1 400	24 500
Kontrolle (Bouillon)	1 300	28 600

Jede Eprouvette wird auf 1,0 ccm mit Bouillon gefüllt.

Wir haben schon bestätigt, dafs die Hämolyse durch Normalserum gehemmt werden kann. Ob diese Hemmung mit dem Cholesteringehalt des Normalserums in einem ursächlichen Zusammenhange steht, müssen wir zunächst feststellen.

Dafs die Bakterienhämolyse durch Cholesterin gehemmt werden kann, ist seit den Untersuchungen Noguchis[37]) und P. Th. Müllers[38]) bekannt. Ich habe früher schon festgestellt, dafs die Lipoide des Blutserums und Cholesterin keine hemmende Wirkung gegen die alkohollöslichen Organhämolysine haben[23]).

Wir untersuchten nun zuerst, ob die alkoholischen Bestandteile der verschiedenen normalen Sera die antihämolytische Wirkung gegen die alkohollöslichen Bakterienhämolysine zeigen.

Es gelang uns, festzustellen, dafs die Serumlipoide nicht hemmend wirken. (Tabelle XII.)

Das Pferde-, Kaninchen- und Hundeserum wurden mit zehnfachen Mengen absoluten Alkohols versetzt, eine Woche bei 40° C oftmals schüttelnd extrahiert und filtriert.

Das Filtrat wurde abgedampft und nochmals mit absolutem Alkohol behandelt, filtriert und abgedampft. Der so gebildete Rückstand wurde in einer dem ursprünglichen Serum entsprechenden Menge von Kochsalzlösung emulgiert.

Tabelle XII.

Pyocyaneusbazillenextrakt: Kaninchenblut. 1,0 ccm 5 proz. Kaninchenblutlösung.

Menge des Extraktes	Menge des Serumextraktes	Hämolyse
0,5	0,5 Pferdeserumextrakt	komplett
0,5	0,25 »	»
0,5	0,1 »	»
0,5	0,5 Kaninchenserumextr.	»
0,5	0,25 »	»
0,5	0,1 »	»
0,5	0,5 Hundeserumextrakt	»
0,5	0,25 »	»
0,5	0,1 »	»

Es wurde Kaninchenserum mit Äther extrahiert und auf antihämolytische Wirkung geprüft. Das mit Äther behandelte Kaninchenserum bewahrte noch sein antihämolytisches Vermögen, während der Rückstand des Ätherextraktes nicht hemmend wirkte.

Tabelle XIII.

Staphylokokkenbouillonextrakt: Kaninchenblut.

Menge des Bouillonextraktes	Menge des mit Äther behandelten Serums	Hämolyse
1,0	—	komplett
1,0	0,25	0
1,0	0,1	fast kompl.
1,0	0,05	komplett

Also ist es wohl annehmbar, dafs die hemmende Wirkung der Normalsera auf die Hämolyse durch die alkohollöslichen Bakterienhämolysine nicht mit den Serumlipoiden in Zusammenhang zu bringen ist. Folgender Versuch bestärkt unsere Annahme.

Tabelle XIV.

Staphylokokkenbouillonextrakt: Kaninchenblut.

Menge der Extraktaufschwem.	Menge der Cholesterinzusätze	Hämolyse
1,0	—	komplett
1,0	0,5	»
1,0	0,25	»
1,0	0,1	»

1 Teil der heifs gesättigten Methylalkohollösung des Cholesterins (Grübler) wurde mit 19 Teilen Kochsalzlösung versetzt.

Einige Autoren haben die antihämolytische Wirkung der Normalsera auf Cholesterin zurückzuführen geglaubt. Aber das Cholesterin zeigte keine Schutzwirkung gegen die alkohollöslichen Bakterienhämotoxine, wie ich dies schon [23]) bei Organhämolysine gefunden habe. Wir müssen also die hemmende Substanz im Bluteiweifs suchen.

Unter den Eiweifsstoffen, welche die Hauptmasse der organischen Substanzen des Serums ausmachen, sind zwei grofse Gruppen zu unterscheiden: die Albumine und Globuline. Wir haben uns nun vorgenommen, die antihämolytischen Wirkungen dieses Serumeiweifses zu beobachten. Fibringlobulin, Euglobulin, Pseudoglobulin und Albumin wurden vom Pferdeserum nach Hammarsten hergestellt und in der dem Serum entsprechenden Menge Wassers gelöst.

Tabelle XV.
Pyocyaneusbouillonkulturextrakt: Kaninchenblut.

Menge der Extraktaufschwem.	Menge der Zusätze	Hämolyse
0,3	—	komplett
0,3	0,5 Pferdeserum	0
0,3	0,25 »	0
0,3	0,1 »	0
0,3	0,5 Pseudoglobulin	0
0,3	0,25 »	0
0,3	0,1 »	teilweise
0,3	0,5 Euglobulin	0
0,3	0,25 »	0
0,3	0,1 »	teilweise
0,3	0,5 Fibringlobulin	komplett
0,3	0,25 »	»
0,3	0,1 »	»
0,3	0,5 Albumin	0
0,3	0,25 »	teilweise
0,3	0,1 »	komplett

Aus obiger Tabelle geht hervor, dafs das Fibringlobulin keine nennenswerte Hemmung bewirkt, während die Verteilung der hemmenden Stoffe im Euglobulin, Pseudoglobulin und Albumin fast gleich ist.

Aus dem Pferdeserum gewonnenes Globulin und Albumin wurden mit Pepsinsalzsäure behandelt und auf ihre hemmende Wirkung geprüft. Die Peprinverdauung hob die Wirkung des Serumeiweißes auf, wie man aus folgender Tabelle ersieht.

Tabelle XVI.

Staphylokokkenextrakt: Kaninchenblut.

Menge der Extrakt-aufschwem.	Menge des mit Pepsin behandelten Serum-eiweißes	Hämolyse
0,5	—	komplett
0,5	0,5 Pseudoglobulin	»
0,5	0,25 »	»
0,5	0,5 Euglobulin	»
0,5	0,25 »	»
0,5	0,5 Albumin	»
0,5	0,25 »	»

Daß derartige antihämolytische Wirkungen normalen Serumeiweißes nicht auf Antikörper im eigentlichen Sinne zurückzuführen sind, geht daraus hervor, daß diese Wirkung den Einfluß hoher Temperatur übersteht. Dies ist aus folgendem Versuch zu finden.

Tabelle XVII.

Pyocyaneusbazillenextrakt: Meerschweinchenblut. 1,0 ccm 5 proz. Meerschweinchenblut + 0,2 Pferdeserum.

Menge der Extrakt-aufschwem.	Pferdeserum wurde 1 Stunde erhitzt		ohne Serumzusatz
	bei 60° C	bei 100° C	
1,0	Spur	Spur	komplett
0,5	0	0	»
0,25	0	0	teilweise
0,1	0	0	Spur
0,05	0	0	0

Madsen und Noguchi[24]) und v. Eisler[25]) konnten das durch Cholesterin neutralisierte Saponin und Tetanolysin mit Chloroformbehandlung frei machen. Es ist mir [23]) auch gelungen, die Verbindung Serumeiweißorganhämolysin durch Alkohol oder

Äther zu sprengen. Wir haben nun den alkoholischen Pyocyaneusbouillonkulturextrakt mit gleicher Menge inaktivierten Hundeserums 30 Minuten bei 37° C gehalten und dann das Gemisch mit Alkohol extrahiert. Der Extrakt wurde abgedampft und in Kochsalzlösung aufgenommen. Durch diese Behandlung gelang es uns, die hämolysierende Substanz von dem Serumeiweiſs wieder in Alkohol aufzunehmen. Dies zeigt, daſs das lipoide Bakterienhämotoxin mit dem Serumeiweiſs sehr locker verbunden ist, wie das Organhämolysin mit Serumeiweiſs.

Nach den Untersuchungen von Kraus und Lipschütz hemmen nicht nur Normalblutserum, sondern auch Normalorgane die Wirkung hämotoxischer Kulturfiltrate. Wir haben schon [23]) nachgewiesen, daſs der Organextrakt eine hemmende Wirkung dem alkohollöslichen Organhämolysin gegenüber ausübt. Dieselbe Wirksamkeit der Organextrakte auf die Hämolyse der Bakterienlipoide ersieht man in folgender Tabelle (Tabelle XVIII).

Der Organextrakt wird derart hergestellt, daſs man Organe der entbluteten Kaninchen in Reibschalen mit sterilem Quarzsand verreibt und mit isotonischer Kochsalzlösung (1 : 5) aufschwemmt. Der Organbrei wird nach einiger Zeit zentrifugiert. Der so gewonnene Extrakt wird in verschiedenen Mengen mit der blutlösenden Bazillenextraktdosis gemischt, eine Stunde bei 37° C stehen gelassen und nach Zusatz von 1,0 ccm einer 5 proz. Blutlösung zwei Stunden bei 37° C und dann bei Zimmertemperatur gehalten.

Tabelle XVIII.

Megatheriumbazillenextrakt: Kaninchenblut.

Menge der Extraktaufschwem.	Menge der Organextrakte	Hämolyse
1,0	—	komplett
1,0	0,5 Leberextrakt	θ
1,0	0,25 »	Spur
1,0	0,1 »	teilweise
1,0	0,5 Nierenextrakt	Spur
1,0	0,25 »	»
1,0	0,1 »	komplett
1,0	0,5 Gehirnextrakt	Spur
1,0	0,25 »	teilweise
1,0	0,1 »	komplett
1,0	0,5 Lungenextrakt	teilweise
1,0	0,25 »	»
1,0	0,1 »	komplett

V.

Durch Zusatz von Salzsäure oder Natronlauge bei höherer Temperatur wird die hämolytische Wirkung dieses Bakterienlipoids nicht zerstört, wie man aus folgender Tabelle ersieht.

Tabelle XIX.

Extrakt von Pyocyaneusbouillonkultur: Kaninchenblut.

Menge der Extrakt-aufschwem.	nicht behandelt	1/40 Normal HCl enthaltend, 30 Min. bei 60° C erwärmt, dann neutralisiert	1/40 Normal NaOH enthaltend, 30 Min. bei 60° C erwärmt, dann neutralisiert
0,5	komplett	komplett	komplett
0,25	teilweise	teilweise	teilweise
0,1	Spur	Kuppe	0

Ich habe früher [23]) festgestellt, dafs alkohollösliche hämolysierende Substanzen der Organe durch Verdauungsfermente nicht vernichtet werden. Die folgende Tabelle XXa zeigt auch, dafs die Verdauungsfermente nicht vermögen, die hämolytische Eigenschaft der Bakterienextrakte zu vernichten. Die Bakterienextrakte wurden mit Pepsinsalzsäure und Trypsin geprüft. Die in Kochsalzlösung suspendierten Bakterienextrakte wurden mit den gleichen Volumen einer 1/4 Normalsalzsäurelösung und der entsprechenden Pepsinmenge, ferner mit dem gleichen Volumen einer 0,8%igen Sodalösung und Trypsin, eine Kontrollprobe mit dem gleichen Volumen physiologischer Kochsalzlösung, versetzt. Nach verschiedenen Zeiten wurden Proben entnommen, neutralisiert und auf Hämolyse geprüft.

Tabelle XXa.

Pyocyaneusbazillenextrakt: Hammelblut.

Menge der Extrakt-aufschwem.	nicht behandelt	Mit Pepsinsalzsäure behandelt	
		nach 8 Std.	nach 24 Std.
1,0	komplett	komplett	komplett
0,5	»	»	»
0,25	teilweise	teilweise	teilweise
0,1	0	0	0

Tabelle XXb.

Menge der Extrakt-aufschwem.	Nicht behandelt	Mit Trypsin behandelt	
		nach 8 Std.	nach 24 Std.
1,0	komplett	komplett	komplett
0,5	»	»	»
0,25	teilweise	teilweise	teilweise
0,1	θ	θ	θ

Wir extrahierten die alkohollöslichen Substanzen mit Azeton und trennten zweierlei Stoffe, einen in Azeton löslichen und einen darin unlöslichen Teil. Die Ergebnisse der Untersuchung beider Substanzen auf ihre Hämolyse und Bakterizidie sind folgende:

Tabelle XXIa.

Staphylokokkenextrakt: Dysenteriebazillen.

	Keimzahl	
	sofort	nach 6 Std.
0,5 Azetonextrakt	1 600	0
0,25 »	2 500	∞
0,1 »	2 000	∞
0,5 Azetonrückstand	2 500	∞
0,25 »	1 600	∞
0,1 »	2 000	∞
Kontrolle (Bouillon)	2 000	∞

Jede Eprouvette wird auf 1 ccm mit Bouillon gefüllt. Der Azetonextrakt und -rückstand werden mit Bouillon emulgiert.

Tabelle XXIb.

Pyocyaneusbazillenextrakt: Dysenteriebazillen.

	Keimzahl	
	sofort	nach 6 Std.
1,0 Azetonextrakt	3 000	θ
0,5 »	3 000	θ
0,25 »	3 500	θ
1,0 Azetonrückstand	3 200	∞
0,5 »	3 000	∞
0,25 »	3 600	∞
Kontrolle (Bouillon)	3 600	∞

Tabelle XXII.

Die alkohollösliche Substanz 14 tägiger Staphylokokkenbouillonkultur wird mit Azeton behandelt und mit Kaninchenblut auf Hämolyse geprüft. Der Extrakt und Rückstand nach der Azetonbehandlung werden in einer 0,85 proz. Kochsalzlösung suspendiert.

	Hämolyse
1,0 Azetonextrakt . .	komplett
0,5 » . .	»
0,25 » . .	teilweise
1,0 Azetonrückstand .	0
0,5 » .	0
0,25 » .	0

Organhämolysine gehen durch poröse Filter nicht durch (Korschun und Morgenroth), während dies bei den Hämolysinen und Bakterizidien der Organantolysaten der Fall ist (Conradi, Fukuhara).

Was die alkohollöslichen Substanzen der Bakterien betrifft, so verlieren sie bei der Filtration durch Tonfilter einen grofsen Teil ihrer Wirksamkeit. Dies zeigt die folgende kleine Übersichtstabelle.

Tabelle XXIII.

Der alkoholische Extrakt wurde in Bouillon suspendiert und mit Tonfilter filtriert. Jede Eprouvette wird auf 1,0 ccm mit Bouillon gefüllt.

a) Bakterizide Reagenzglasversuche mit Cholerabazillen.

Menge der Extraktaufschwemmung	Keimzahl	
	Einsaat	nach 4 Std.
0,5 vor der Filtration . .	830	0
0,25 » » » . .	790	60
0,5 nach der Filtration .	800	500
0,25 » » » .	850	8 200
Kontrolle Bouillon . . .	900	15 000

b) Hämolytische Versuche mit Kaninchenblut.
1,0 ccm Kaninchenblutlösung (5 %).

Menge der Extrakt-aufschwemmung	Hämolyse
1,0 vor der Filtration . .	komplett
0,5 » » » . .	»
0,25 » » » . .	fast kompl.
1,0 nach der Filtration .	»
0,5 » » » .	Spur
0,25 » » » .	0

VI.

Es ist noch nicht entschieden, ob der hitzebeständige in Alkohol lösliche Bakterienstoff Antitoxin zu erzeugen vermag.

Wir unternahmen nun, die Antikörperbildung zu untersuchen. Vier Kaninchen wurde die alkohollösliche Substanz peritoneal in gewissen Intervallen mit steigender Dosis immunisiert und 7 Tage nach der letzten Injektion entblutet und auf die antihämolytische (antibakterizide) Wirkung geprüft. Die antihämolytische und antibakterizide Wirkung des Immunserums gegenüber dem Bakterienextrakte erwies sich genau gleich derjenigen normalen Kaninchenserums.

Es ist also nicht möglich gewesen, durch Injektion von Bakterienextrakten Antikörper zu erzeugen. Ich [31]) habe schon nachgewiesen, dafs die hämolysierenden Lipoide von Organautolysaten keine antigene Eigenschaft haben. Korschun und Morgenroth [30]) haben auch früher gefunden, dafs die hämolysierenden Organextrakte zur Antokörperbildung nicht befähigt sind.

Aus diesen Tatsachen dürfen wir annehmen, dafs verschiedene Lipoide, sei es aus frischen Organextrakten, sei es aus Organautolysaten sei es, aus Bakterien, eine nahe verwandte biochemische Eigenschaft besitzen. Ob man die verschiedenen Lipoide, sowohl von tierischem als auch von pflanzlichem, insbesondere bakteriellem Ursprung durch irgendein Charakteristikum differenzieren kann, können erst weitere chemische Untersuchungen entscheiden.

VII.

Um festzustellen, ob die nachweisbare hämolysierende Bakteriensubstanz durch Zusatz von Lezithin eine stärkere Aktivität erhält, wurden folgende Versuche angestellt: Man konstatierte zunächst, daſs eine 1 prozentige Auflösung von Lezithin (Grüblers Ovo-Lezithin) in reinstem Methylalkohol und ebenso letzterer selbst in den daselbst angewandten Mengen eine hämolytische Wirkung nicht auszuüben vermögen.

Tabelle XXIV.

Jede Eprouvette wird mit Kochsalzlösung auf 2,0 ccm gefüllt. Staphylokokkenextrakt: Kaninchenblut.

Bakterien-aufschwemmung	Jedem Röhrchen wird 0,5 ccm Lezithinlösung (1 : 1000) zugesetzt	Jedem Röhrchen wird 0,5 ccm Methylalkohol zugesetzt.
0,1	θ	θ
0,2	Spur	Spur
0,3	starke Kuppe	starke Kuppe
0,4	»	»
0,5	teilweise	teilweise
0,8	»	»
1,0	komplett	komplett

Ein wesentlicher Unterschied in der Wirkung wurde also durch das zugesetzte Lezithin nicht erzielt.

VIII.

Schluſssätze.

1. Das Vorkommen der bakteriziden bzw. hämolysierenden Substanzen in den alkoholischen Bakterienextrakten ist jenach der Bakterienart und dem Stamme ein und derselben Art verschieden. Bei Staphylokokken und Pyocyaneusbazillen sind bakterizide sowie hämolysierende Stoffe fast stets nachweisbar.
2. Diese genannten Stoffe gehen allmählich in Kulturmedien über.
3. Die bakterizide und die hämolytische Wirkung dieser Stoffe sind in vivo nicht nachweisbar.

4. Diese Stoffe sind hitzebeständig und werden durch Salzsäure und Natronlauge sowie Verdauungsfermente nicht vernichtet.
5. Die bakterizide und hämolytische Wirkung dieser Substanzen wird nicht nur durch die Erwärmung in einer serumeiweifshaltigen Flüssigkeit, sondern auch durch einen einfachen Zusatz von Serumeiweifs inaktiviert.
6. Die bakteriolytisch oder hämolytisch wirkende Substanz von Bakterien geht durch poröse Filter zum kleinen Teil hindurch.
7. Die antihämolytische Wirkung des Normalserums gegen die alkohollöslichen Bakterienextrakte beruht auf dem Vorhandensein des Sorumeiweifses, nicht aber auf dem des Serumlipoids. Unter den Serumeiweifsen spielen Euglobulin, Pseudoglobulin und Albumin eine grofse Rolle bezüglich der antihämolytischen Wirkung des Normalserums.
8. Diese antihämolytische Wirkung des Normalserums wird durch Pepsinverdauung aufgehoben.
9. Die wässerigen Organextrakte von Kaninchenleber, -Niere, -Gehirn und -Lunge haben auch mehr oder weniger antihämolytische Wirkung gegenüber den alkohollöslichen Bakterienhämotoxinen.
10. Diese Bakteriensubstanz ist zur Antikörperbildung nicht befähigt, also kein Antigen.
11. Sie ist fast analog mit den von Tarassewitsch, Korschun und Morgenroth, Conradi, Fukuhara u. a. studierten hämolysierenden Substanzen sowohl der Organextrakte als auch der Organautolysate.
12. Diese Substanz ist sehr wahrscheinlich schon in der lebenden Bakterienzelle als solche vorhanden, und wir können sie durch vorangehende Autolyse leichter aus Bakterienleibern extrahieren.
13. Die hämolysierende Bakteriensubstanz erfährt keine Steigerung ihrer Wirksamkeit durch Zusatz von Lezythin und trägt demnach nicht den Charakter eines Toxolezithides.

Literaturverzeichnis.

1. Hankin: Proc. of the royal Soc. Bd. 48.
2. Sabrazès und Rivières: Compt. rend. de la soc. de Biolog. 1893.
3. Kopp: Zentralbl. f. Bakteriologie Bd. 17.
4. Kotlar: ibidem Bd. 17.
5. Hennsen: ibidem Bd. 17.
6. Livingood: ibidem Bd. 23.
7. Bail und Petterson: ibidem Bd. 35.
8. Levaditi: Ann. de l'institut Pasteur 1903.
9. Bayer: Sitzungsber. d. Kaiserl. Akademie d. Wissenschaft, Wien 1906, Bd. 115.
10. Emmerich und Löw: Zentralbl. f. Bakteriologie Bd. 31.
11. Landsteiner und Raubitschek: ibidem Bd. 45 1907.
12. Raubitschek und Rufs: Wiener kl. Wochenschr. 1908 Nr. 8.
13. Emmerich und Löw: Zeitschr. f. Hygiene Bd. 31 u. 36.
14. Eykmann: Zentralbl. f. Bakteriologie Bd. 37.
15. Conradi und Kurpjuweit: Münch. med. Wochenschr. 1905.
16. Oebius: Med. Klinik 1906 Nr. 23.
17. Passini: Wiener kl. Wochenschr. 1906 Nr. 21.
18. Raubitschek: Zentralbl. f. Bakteriologie Bd. 46.
19. Bassenge: Deutsche med. Wochenschr. 1908.
20. v. Freudenreich: Ann. des Micrographie 1889.
21. Dietrich: Arbeiten aus dem Tübinger patholog. Institut 1901, Bd. 3.
22. Klimoff: Zeitschr. f. Hygiene Bd. 37, 1901.
23. Fukuhara: Zeitschr. f. Immunitätsforschung u. experim. Therap. 1. Bd.
24. Madsen und Noguchi: Zentralbl. f. Bakteriologie Ref. 1905.
25. v. Eisler: Zeitschr. f. experim. Path. u. Therap. 3. Bd.
26. Fränkel und Baumann: Münch. med. Wochenschr. 1905.
27. Bulloch und Hunter: Zentralbl. f. Bakteriologie Bd. 28.
28. Breymann: ibidem Bd. 31.
29. Dreyer und Blake: Lancett. 1904.
30. Korschun und Morgenroth: Berl. kl. Wochenschr. 1902.
31. Fukuhara: Zeitschr. f. experim. Path. u. Therapie 4. Bd. 1907.
32. Kreucher; Inaug.-Dissertation, Strafsburg 1903.
33. Tott: Transaction of the pathological soc. of London 1902, Vol. 53.
34. Kraus und Ludwig: Wiener kl. Wochenschr. 1902.
35. Streng: Arbeiten aus dem pathol. Institut Helsingfors 1902.
36. Fukuhara: Zieglers Beiträge 1902, Bd. 25.
37. Noguchi: Zentralbl. f. Bakteriologie Bd. 32.
38. P. Th. Müller: ibidem Bd. 34.
39. Noguchi: Biochem. Zeitschr. Bd. 6.
40. Liebermann: Biochem. Zeitschr. 1907.

ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOFER.**)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München; Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN, Würzburg; Prof. Dr. A. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. Fr. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS, Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. W. SILBERSCHMIDT, Zürich; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,

O. Ö. PROFESSOREN AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG MÜNCHEN LEIPZIG BERLIN.

EINUNDSIEBZIGSTER BAND. 4. HEFT.

MÜNCHEN UND BERLIN.
DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.
1909.

Inhalt.

In dem nächsten Hefte folgen:

Quantitative Untersuchungen über die Reduktionswirkung der Typhus-Koli-Gruppe. Von Privatdozent Dr. med. Heinrich Wichern, Assistenten der Klinik. (Aus der medizinischen Klinik der Universität Leipzig. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Curschmann.)

Über den Prozeß der Selbstreinigung der natürlichen Wässer nach ihrer künstlichen Infizierung durch Bakterien. Von Prof. Dr. E. Schepilewsky. (Aus dem Hygienischen Institut der Universität Dorpat. Direktor: Prof. E. Schepilewsky.)

Einsendungen beliebe man an **Geheimrat Professor Dr. Rubner, Berlin N. 4, Hessischestr. 3–4,** *zu richten.*

---

10. 8.

Hierzu je eine Beilage von der **Akadem. Verlags-Gesellschaft m. b. H., Leipzig,** und von der Verlagsbuchhandlung **R. Oldenbourg, München-Berlin.**